

**ISOLASI BAKTERI *Bacillus thuringiensis* DARI TANAH KOTA MAKASSAR
DAN UJI AKTIVITAS BIOINSEKTISIDA TERHADAP
LARVA NYAMUK *Aedes aegypti***



Skripsi
Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Meraih Gelar Sarjana Farmasi
Jurusan Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan
UIN Alauddin Makassar

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN

Oleh:
NOER FAUZIAH RAHMAN
NIM: 70100110081

FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UIN ALAUDDIN MAKASSAR
2014

**ISOLASI BAKTERI *Bacillus thuringiensis* DARI TANAH KOTA MAKASSAR
DAN UJI AKTIVITAS BIOINSEKTISIDA TERHADAP
LARVA NYAMUK *Aedes aegypti***



Skripsi
Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Meraih Gelar Sarjana Farmasi
Jurusan Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan
UIN Alauddin Makassar

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN

Oleh:
NOER FAUZIAH RAHMAN
NIM: 70100110081

FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UIN ALAUDDIN MAKASSAR
2014

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Mahasiswa yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Noer Fauziah Rahman
NIM : 70100110081
Tempat/Tgl. Lahir : Ujung Pandang/9 Oktober 1991
Jurusan : Farmasi
Fakultas : Ilmu Kesehatan
Alamat : Jalan Wijaya Kusuma 3 Komp. Kesehatan Banta-bantaeng Blok
K16/12, Kel. Banta-bantaeng, Kec. Rappocini, Kota Makassar
Judul : Isolasi Bakteri *Bacillus thuringiensis* dari Tanah Kota
Makassar dan Uji Aktivitas Bioinsektisida terhadap Larva
Nyamuk *Aedes aegypti*

Menyatakan dengan sesungguhnya dan penuh kesadaran bahwa skripsi ini benar adalah hasil karya sendiri. Jika dikemudian hari terbukti bahwa ia merupakan duplikat, tiruan, plagiat, atau dibuat oleh orang lain, sebagian atau seluruhnya, maka skripsi dan gelar yang diperoleh karenanya batal demi hukum.

Makassar, Agustus 2014

Penyusun,

Noer Fauziah Rahman
NIM: 70100110081

PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi yang berjudul “Isolasi Bakteri *Bacillus thuringiensis* dari Tanah Kota Makassar dan Uji Aktivitas Bioinsektisida terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*” yang disusun oleh Noer Fauziah Rahman, NIM: 70100110081, Mahasiswa Jurusan Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar, telah diuji dan dipertahankan dalam Ujian Sidang Skripsi yang diselenggarakan pada hari Rabu tanggal 27 Agustus 2014 M yang bertepatan dengan 1 Dzulqaidah 1435 H, dinyatakan telah dapat diterima sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana dalam Fakultas Ilmu Kesehatan, Jurusan Farmasi.

Makassar, Rabu 27 Agustus 2014 M
1 Dzulqaidah 1435 H

DEWAN PENGUJI

Ketua	: Dr. dr. H. Andi Armyn Nurdin, M.Sc.	(.....)
Sekretaris	: Dra. Hj. Faridha Yenny Nonci, M.Si., Apt.	(.....)
Pembimbing I	: Hj. Gemy Nastity Handayany, S.Si., M.Si., Apt.	(.....)
Pembimbing II	: Mukhriani, S.Si., M.Si., Apt.	(.....)
Penguji Kompetensi	: Nurshalati Tahar, S.Farm., M.Si., Apt.	(.....)
Penguji Agama	: Dra. Audah Mannan, M.Ag.	(.....)

Diketahui oleh
Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan
UIN Alauddin Makassar,

Dr. dr. H. Andi Armyn Nurdin, M.Sc.

KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadiran Allah Yang Maha Kuasa atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga skripsi yang berjudul “Isolasi Bakteri *Bacillus thuringiensis* dari Tanah Kota Makassar dan Uji Aktivitas sebagai Bioinsektisida terhadap larva Nyamuk *Aedes aegypti*” yang merupakan salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana pada Jurusan Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar dapat terselesaikan dengan baik dan sebagaimana mestinya.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga dan penghargaan sebesar-besarnya kepada Ibu Hj. Gemy Nastity Handayani, S.Si., M.Si., Apt. dan Ibu Mukhriani, S.Si., M.Si., Apt. sebagai dosen pembimbing, juga terima kasih yang setulusnya kepada Ibu Nurshalati Tahar, S.Farm., M.Si., Apt. dan Ibu Dra. Audah Mannan, M.Ag. selaku dosen penguji yang telah banyak memberi saran dalam penyusunan skripsi ini.

Tidak lupa pula penulis menghaturkan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ayahanda Rahman, S.Si., M.Si. dan Ibunda Nuliati serta seluruh keluarga yang tercinta yang tidak henti-hentinya mendoakan dan memberikan semangat serta senantiasa membantu dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini
2. Prof. Qadir Gassing, HT, M.S. selaku Rektor Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar

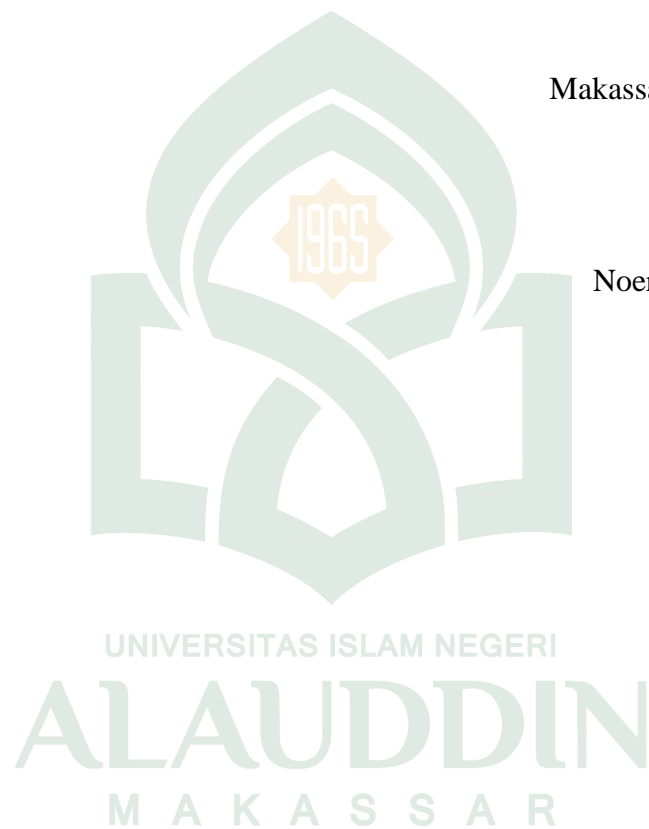
3. Dr. dr. H. Andi Armyn Nurdin, M.Sc. selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar
4. Dra. Hj. Fatmawati, M.Si. selaku Wakil Dekan I Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar
5. Dra. Hj. Faridha Yenny Nonci, M.Si., Apt selaku Wakil Dekan II Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar
6. Drs. Wahyuddin G., M.Ag. selaku Wakil Dekan III Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar
7. Nursalam Hamzah, S.Si., M.Si., Apt. sebagai Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar
8. Surya Ningsih, S.Si., M.Si., Apt. sebagai Sekretaris Jurusan Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar
9. Bapak dan Ibu dosen yang dengan ikhlas membagi ilmunya, semoga jasa-jasanya mendapatkan balasan dari Allah
10. Seluruh laboran yang senantiasa membimbing dan mengarahkan
11. Seluruh staf Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar
12. Teman-teman seperjuangan, angkatan 2010 Corrigensia, yang tak pernah berhenti memberikan semangat dan doa
13. Kakak-kakak dan adik-adik di Jurusan Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar
14. Serta seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu

Penulis menyadari bahwa dalam skripsi ini masih banyak yang perlu diperbaiki, oleh karena itu diharapkan saran yang sifatnya membangun dan petunjuk untuk kesempurnaannya.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan serta seluruh pihak yang berkenan membacanya.

Makassar, Agustus 2014

Noer Fauziah Rahman



DAFTAR ISI

	Hal.
JUDUL	i
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	ii
PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
ABSTRAK	xii
ABSTRACT.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1-10
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Defenisi Operasional dan Ruang Lingkup Penelitian	5
D. Kajian Pustaka.....	7
E. Tujuan dan Kegunaan Penelitian	9
BAB II TINJAUAN TEORETIS.....	11-36
A. Isolasi Bakteri.....	11
B. Uraian Bakteri <i>Bacillus thuringiensis</i>	14
C. Uraian Nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	17
D. Insektisida	27

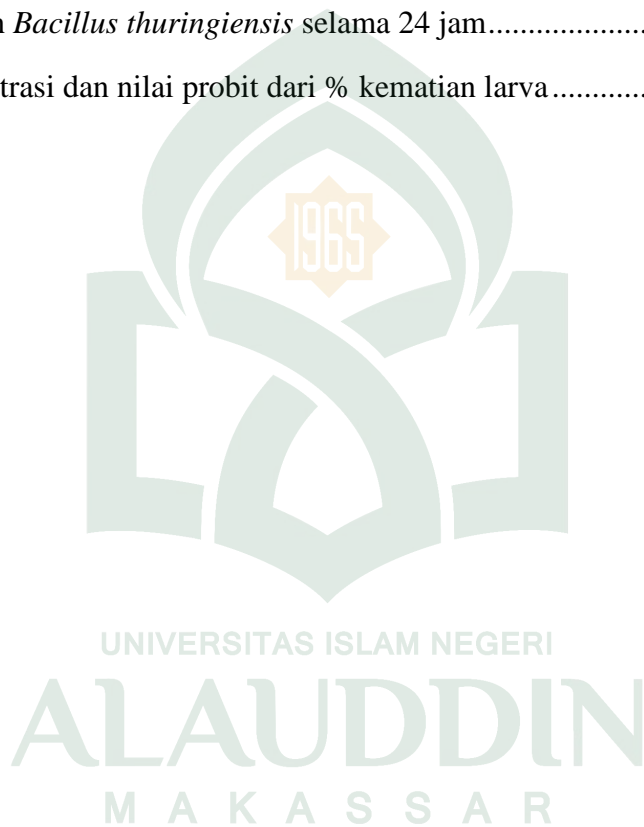
	E. Bioinsektisida.....	29
	F. Tinjauan Islam Mengenai Isolasi Bakteri	30
BAB III	METODOLOGI PENELITIAN	37-44
	A. Jenis dan Lokasi Penelitian.....	37
	B. Pendekatan Penelitian.....	37
	C. Populasi dan Sampel.....	37
	D. Metode Pengumpulan Data	37
	E. Instrumen Penelitian.....	44
	F. Teknik Pengolahan dan Analisis Data.....	44
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	45-58
	A. Hasil Pengamatan.....	45
	B. Pembahasan.....	49
BAB V	PENUTUP	59
	A. Kesimpulan.....	59
	B. Implikasi Penelitian	59
	DAFTAR PUSTAKA	60-62
	LAMPIRAN-LAMPIRAN.....	63-83
	DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	84

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Hal.
1. <i>Bacillus thuringiensis</i>	15
2. Siklus hidup <i>Aedes aegypti</i>	20
3. Telur <i>Aedes aegypti</i>	21
4. Larva <i>Aedes aegypti</i>	22
5. Pupa <i>Aedes aegypti</i>	23
6. Beda nyamuk <i>Aedes aegypti</i> jantan (kiri) dan betina (tengah).....	24
7. Suspensi sampel tanah	66
8. Foto hasil isolat bakteri dari tanah pada media agar	67
9. Hasil pengecatan Gram.....	68
10. Hasil pengecatan spora	69
11. Hasil fermentasi yang telah disentrifugasi.....	70
12. Hasil uji aktivitas biokimia.....	71
13. Gambar keadaan larva <i>Aedes aegypti</i> sebelum dan sesudah perlakuan ..	72

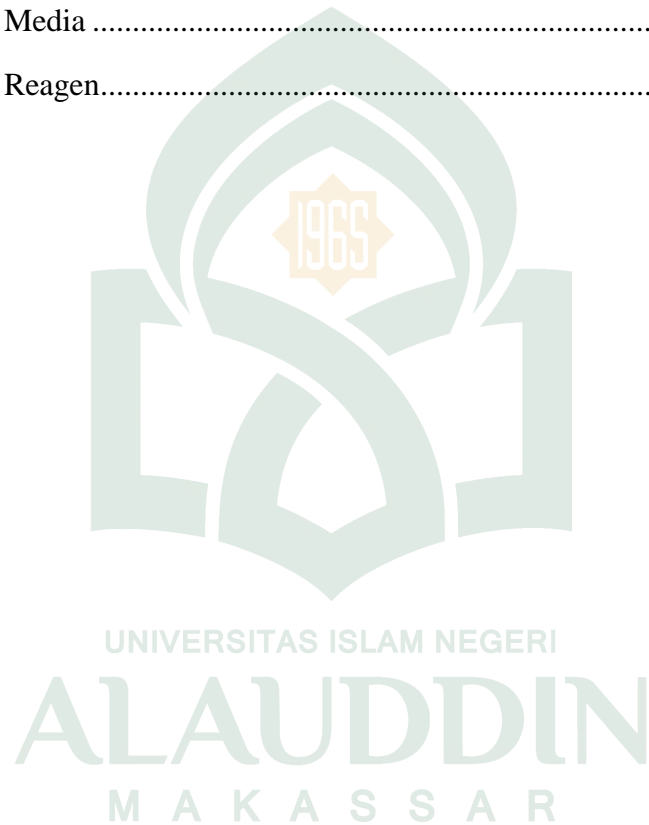
DAFTAR TABEL

Tabel	Hal.
1. Hasil pengecatan Gram dan pengecatan Spora.....	45
2. Hasil pemurnian Isolat <i>Bacillus thuringiensis</i>	46
3. Hasil uji aktifitas Biokimia.....	47
4. Daya bunuh <i>Bacillus thuringiensis</i> selama 24 jam.....	48, 73
5. Log konsentrasi dan nilai probit dari % kematian larva.....	74



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Hal.
1. Skema Kerja.....	63
2. Hasil Pengamatan	66
3. Perhitungan	73
4. Pembuatan Media	75
5. Pembuatan Reagen.....	81



ABSTRAK

Nama Penyusun : Noer Fauziah Rahman

NIM : 70100110081

Judul Skripsi : Isolasi Bakteri *Bacillus thuringiensis* dari Tanah Kota Makassar dan Uji Aktivitas Bioinsektisida terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*

Telah dilakukan penelitian isolasi bakteri *Bacillus thuringiensis* dari tanah kota Makassar. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh isolat bakteri *Bacillus thuringiensis* yang berpotensi sebagai pengendali hayati terhadap vektor penyakit yang disebabkan oleh *Aedes aegypti*.

Bakteri *Bacillus thuringiensis* diisolasi dari tanah dengan menggunakan metode Ohba dan Aizawa. Media yang digunakan adalah media Nutrient Agar (NA) dan media selektif Luria Bertani Dapar Asetat 0,25M pH 6,8. Isolat yang diperoleh selanjutnya dikarakterisasi dan diidentifikasi berdasarkan morfologi sel dan koloni, pengecatan Gram, pengecatan spora, dan uji biokimia, isolat tersebut diidentifikasi sebagai anggota *Bacillus thuringiensis*. Seabstraktbanyak 19 koloni dari 3 sampel tanah yang dianalisis, diperoleh 1 koloni *Bacillus thuringiensis*, yaitu koloni B₆9. yang menunjukkan hasil positif sebagai *Bacillus thuringiensis* yang efektif digunakan sebagai bioinsektisida.

Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas bioinsektisida dengan menggunakan larva nyamuk *Aedes aegypti* instar ketiga yang dibagi dalam 6 kelompok, yaitu 5 kelompok perlakuan yang diberikan endapan hasil fermentasi dengan mencampurkan ke dalam air sehingga diperoleh konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25% dan 1 kelompok kontrol berupa air suling.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa isolat tersebut dapat menyebabkan mortalitas berkisar antara 6,67-60% setelah pengamatan selama 24 jam dan mortalitas tertinggi terjadi pada konsentrasi 25% dengan nilai LC₅₀ 24,62%

Kata kunci: Isolasi, *Bacillus thuringiensis*, Bioinsektisida, *Aedes aegypti*

ABSTRACT

Author : Noer Fauziah Rahman
Student Reg. Number : 70100110081
Thesis title : Isolation of *Bacillus thuringiensis* bacteria from Soil in Makassar and Bio-pesticide Test againts *Aedes aegypti* larvae

An investigation of bacteria *Bacillus thuringiensis* from soil in Makassar have been done. This study aims to obtain bacterial isolates of *Bacillus thuringiensis* as a potential biological control against diseases caused by vector *Aedes aegypti*.

Bacillus thuringiensis bacteria isolated from soil by using Ohba and Aizawa method. The medium used are Nutrient Agar (NA) medium and Luria Bertani 0.25 M acetate buffer pH 6.8 as selective media. Isolates were then characterized and identified based on colony and cell morphology, Gram staining, spore staining, and biochemical tests, these isolates were identified as members of *Bacillus thuringiensis*. Total of 19 colonies from 3 soil samples were analyzed and 1 colony of *Bacillus thuringiensis* obtained, which colonies B₆9 were showing positive results as *Bacillus thuringiensis*. Further testing biopesticide activity using third instar larvae of *Aedes aegypti* were divided into 6 groups, namely the 5 treatment groups were given fermented by mixing the sediment into the water to obtain a concentration of 5%, 10%, 15%, 20%, 25% and 1 control group in the form of distilled water.

The test results showed that these isolates can cause mortality ranged from 6,67- 60% after observation for 24 hours and the highest mortality occurred at a concentration of 25% with LC₅₀ value was 24,62%.

Keywords: Isolation, *Bacillus thuringiensis*, biopesticide, *Aedes aegypti*



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Bakteri adalah sel prokariotik yang khas; uniseluler dan tidak mengandung struktur yang terbatas membran di dalam sitoplasmanya. Beberapa dapat tumbuh pada suhu 0°C, ada yang tumbuh dengan baik pada sumber air panas yang suhunya 90°C atau lebih. Kebanyakan tumbuh pada berbagai suhu di antara kedua suhu ini. Beberapa macam menimbulkan penyakit pada hewan (termasuk manusia), tumbuhan dan protista lainnya. Organisme ini sangat luas penyebarannya dalam dan pada permukaan bumi, di atmosfer, dan dilingkungan kita sehari-hari (Pelczar, 1986: 46-47). Salah satu contoh bakteri yang memiliki banyak keuntungan dan kerugian adalah bakteri bentuk batang atau basil.

Marga *Bacillus* terdiri dari banyak bakteri saprofit yang mampu menghasilkan endospora. Bakteri ini memiliki bentuk batang, biasanya Gram-positif, katalase-positif, dan aerobik atau anaerobik fakultatif. Kebanyakan bentuk endospora gram-positif adalah bakteri yang berasal dari tanah. *Bacillus* telah dibagi menjadi tiga kelompok berdasarkan bentuk morfologi spora dan pembengkakan pada sporangium (Çinar, 2005: 2-3).

Isolasi *Bacillus thuringiensis* mengandung arti proses pengambilan mikroorganisme dari lingkungannya untuk kemudian ditumbuhkan dalam suatu medium di laboratorium. Proses isolasi ini menjadi penting dalam mempelajari identifikasi mikrobia, uji morfologi, fisiologi dan serologi (Jati, dkk., 2013: 1).

Bacillus thurngiensis merupakan bakteri Gram-positif, berbentuk batang, motil, bersifat anaerob fakultatif, suhu pertumbuhan optimal untuk *Bacillus*

thuringiensis berkisar antara 30°-45°C (Martin, 2010: 204-208), *Bacillus thuringiensis* adalah bakteri pembentuk spora yang mampu menghasilkan kristal parasporal protein selama sporulasi. Toksisitas dari kristal parasporal tergantung dari jenis serangga (Diptera, Lepidoptera dan Coleoptera) dan invertebrata lainnya. *Bacillus thuringiensis* adalah bakteri yang tersebar luas di habitat yang berbeda termasuk; tanah, larva serangga yang sakit dan berbagai macam lahan pertanian (Al-Momani dan Obeidat, 2012: 16).

Banyak strain dari bakteri ini menghasilkan protein yang beracun bagi serangga. Sejak diketahuinya potensi dari protein Kristal *Bacillus thuringiensis* sebagai agen pengendali serangga, berbagai isolat *Bacillus thuringiensis* dengan berbagai jenis protein Kristal yang dikandungnya telah teridentifikasi. Sampai saat ini telah diidentifikasi protein Kristal yang beracun terhadap larva dari berbagai ordo serangga yang menjadi hama pada tanaman pangan dan hortikultura. Kebanyakan dari protein Kristal tersebut lebih ramah lingkungan, karena mempunyai target yang spesifik sehingga tidak mematikan serangga bukan sasaran dan mudah terurai, sehingga tidak menumpuk dan mencemari lingkungan (Jati, dkk., 2013: 1). Kristal protein tersebut bersifat toksik terhadap anggota diptera baik larva maupun dewasa (Gama dkk., 2010: 2). karena kemampuannya tersebut, bakteri *Bacillus thuringiensis* dapat digunakan sebagai bioinsektisida.

Indonesia merupakan salah satu negara tropis yang merupakan tempat perkembangbiakan yang baik bagi serangga. Salah satu jenis serangga yang kadang merugikan adalah nyamuk. Nyamuk juga dapat menularkan penyakit seperti Malaria, Demam Berdarah Dengue (DBD) dan Filariasis.

Pada tahun 2001, wabah DBD masih menyerang hampir seluruh daerah di Indonesia, baik daerah perkotaan maupun pedesaan. Wabah DBD juga menyerang pada bayi, anak-anak serta orang dewasa, sehingga tidak sedikit penderita tersebut yang meninggal dunia (Gama dkk., 2010: 2). Jumlah penderita DBD umumnya meningkat pada awal musim hujan, yaitu antara September hingga Februari yang banyak terdapat genangan air bersih di dalam sisa-sisa kaleng bekas, ban bekas, maupun benda-benda lain yang mampu menampung sisa air hujan. Di daerah urban berpenduduk padat, puncak penderita penyakit DBD adalah bulan Juni atau Juli, bertepatan dengan awal musim kemarau (Ginanjar, 2007: 26-27). Penyakit Demam Berdarah Dengue disebabkan oleh virus Dengue dengan bantuan inang dari nyamuk *Aedes aegypti*.

Indonesia pernah mengalami kasus terbesar (53%) Demam Berdarah Dengue pada tahun 2005 di Asia Tenggara, yaitu 95.270 kasus dan kematian 1.298 orang (CFR = 1,36%) (WHO, 2006). Jumlah kasus tersebut meningkat menjadi 17 % dan kematian 36% dibandingkan tahun 2004. Banyak faktor yang mempengaruhi kejadian kejadian penyakit demam berdarah dengue, diantaranya adalah faktor inang, lingkungan dan faktor penular serta pathogen. Faktor inang menyangkut kerentanan dan imunitasnya terhadap penyakit, sedangkan faktor lingkungan menyangkut kondisi geografi (ketinggian dari permukaan laut, curah hujan, angin, kelembapan dan musim), kondisi demografi (kepadatan, mobilitas, perilaku, adat istiadat dan sosial ekonomi penduduk), dan jenis dan kepadatan nyamuk sebagai vektor penular penyakit tersebut (Jati, dkk. 2013: 2).

Aedes aegypti merupakan spesies nyamuk tropis dan subtropis yang banyak ditemukan antara 35°Lintang Utara dan 35°Lintang Selatan. Distribusi nyamuk ini

dibatasi oleh ketinggian, biasanya tidak dapat dijumpai pada daerah dengan ketinggian lebih dari 1.000m, meski pernah ditemukan pada ketinggian 2.121m di India dan 2.200m di Kolombia (Ginanjari, 2007: 25). Nyamuk *Aedes aegypti* sangat suka tinggal dan berbiak di genangan air bersih yang tidak berkontak langsung dengan tanah. Vektor penyakit DBD ini diketahui banyak bertelur di genangan air yang terdapat pada sisa-sisa kaleng bekas, tempat penampungan air, bak mandi, ban bekas dan sebagainya (Ginanjari, 2007: 26).

Pengembangan insektisida mikrobial (bioinsektisida) yang memanfaatkan *Bacillus thuringiensis* isolat asli Indonesia merupakan langkah awal yang penting. Isolat ini memberikan harapan untuk pemanfaatan dan pengembangan sebagai bahan dasar produksi bioinsektisida. Namun demikian, masih diperlukan seleksi strain *Bacillus thuringiensis* asli Indonesia yang memiliki kemampuan daya bunuh yang tinggi serta berdaya toksik terhadap kisaran jenis serangga yang lebih luas sehingga lebih bermanfaat (Jati dkk., 2013: 3).

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dilakukan penelitian tentang isolasi bakteri *Bacillus thuringiensis* yang berasal dari Kota Makassar kemudian dilakukan uji daya bunuh sebagai bioinsektisida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*.

B. Rumusan Masalah

1. Apakah isolat bakteri *Bacillus thuringiensis* yang diisolasi dari sampel tanah yang diperoleh dari Kota Makassar memiliki daya bunuh terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*?
2. Seberapa besar toksisitas bakteri *Bacillus thuringiensis* yang memiliki daya bunuh sebagai bioinsektisida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*?

C. Definisi Operasional dan Ruang Lingkup Penelitian

1. Definisi Operasional

- a. Isolasi adalah pemisahan suatu hal dari hal lain atau usaha untuk memisahkan bakteri yang satu dengan bakteri yang lain.
- b. *Bacillus thuringiensis* adalah bakteri berbentuk batang, gram positif, bersifat anaerob fakultatif dan sporanya digunakan sebagai agen biokontrol terhadap hama.
- c. Uji aktivitas adalah suatu teknik yang dilakukan untuk mengukur seberapa besar potensi atau konsentrasi suatu senyawa yang dapat memberikan efek bagi mikroorganisme lain.
- d. Bioinsektisida adalah salah satu jenis pestisida bukan kimia yang dapat digunakan untuk mengendalikan hama berupa serangga.
- e. *Aedes aegypti* adalah jenis nyamuk yang memiliki ukuran sedang atau kecil yang memiliki bercak atau garis putih di tubuhnya.
- f. Demam berdarah adalah penyakit demam yang disebabkan oleh gigitan nyamuk *Aedes aegypti* yang menyebabkan bintik-bintik merah pada kulit serta perdarahan yang keluar dari lubang hidung, lubang telinga, dsb.
- g. Lepidoptera adalah salah satu ordo serangga yang termasuk di dalamnya kupu-kupu dan ngengat.
- h. Coleoptera adalah salah satu jenis ordo serangga yang sering disebut kumbang karena kebanyakan didominasi oleh kelompok kumbang dan memiliki sayap depan yang keras, tebal dan merupakan penutup bagi sayap belakang tubuhnya.
- i. Diptera adalah ordo klasifikasi dari kelas insekta yang didasarkan atas sayapnya yang mempunyai ciri hanya menggunakan sepasang sayap tipis yang

fungsional untuk terbang, sementara sepasang lain hanya sebagai pembantu penstabil atau sebagai detektor kecepatan udara. Walaupun banyak serangga yang bisa terbang, namun hanya diptera yang dianggap sebagai lalat sejati karena karakter ini. Diptera memiliki mata faset yang besar jika dibanding tubuhnya. Antenanya bisa pendek maupun panjang. Termasuk dalam ordo diptera antara lain lalat dan nyamuk. Biasanya hidup dengan menghisap darah, sari tumbuhan, membantu penyerbukan, atau dari bangkai makhluk hidup.

- j. Hymenoptera adalah salah satu ordo serangga, yang antara lain terdiri atas tawon, lebah dan semut. Nama ini merujuk ke sayap bermembran dari serangga. Sayap belakang terhubung ke sayap depan.
- k. Hemiptera adalah ordo dari serangga yang juga dikenal sebagai kepik sejati (walaupun beberapa anggota Hemiptera bukanlah kepik sejati). Hemiptera terdiri dari 80.000 spesies serangga seperti tonggeret, kutu daun, anggang-anggang, walang sangit, serangga sisik dan lain-lain. Mereka semua memiliki ciri-ciri khusus seperti mulut berbentuk jarum dan tidak mengalami metamorfosis sempurna.
- l. Orthoptera adalah salah satu ordo serangga yang ciri-cirinya memiliki satu pasang sayap, sayap depan lebih tebal dan sempit. Sayap belakang tipis berupa selaput. Sayap digunakan sebagai penggerak pada waktu terbang, setelah melompat dengan tungkai belakangnya yang lebih kuat dan besar. Hewan jantan mengerik dengan menggunakan tungkai belakangnya pada ujung sayap depan, untuk menarik betina atau mengusir saingannya. Tipe mulutnya menggigit. Contoh dari Orthoptera adalah belalang, kecoak, gangsir tanah, jangkrik.

- m. Mallophaga adalah kutu pengunyah atau kutu penggigit. Hidup sebagai parasit yang umumnya pada unggas dan beberapa mamalia. Selain hidup di bagian sayap, kutu pengunyah ini juga sering hidup di bagian kepala dan leher yang susah digapai oleh paruh.
- n. Anaerob fakultatif adalah jenis mikroorganisme yang mampu tumbuh dalam lingkungan dengan atau tanpa oksigen.

2. Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup dari penelitian ini yaitu dilakukan penelitian dari bulan Juni 2014 hingga bulan Juli 2014. Sampel yang digunakan adalah sampel tanah yang berwarna kehitaman atau kecoklatan yang berasal dari tanah perkebunan di kota Makassar.

Larva uji yang digunakan adalah larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III yang diperoleh dari tempat penampungan air bersih, seperti kaleng-kaleng bekas, vas bunga, ban-ban bekas, dll.

D. Kajian Pustaka

Jeffij V. Hasinu. *Isolasi dan Uji Patogenisitas Bacillus thuringiensis terhadap Crocidolomia binotalis Zell. (Lepidoptera: Pyralidae)*. 2009. *Bacillus thuringiensis* diisolasi dari Kopeng dan Ngablak, Jawa Tengah dengan menggunakan Metode Aizawa. Uji Patogenisitas menggunakan metode Hamilton dan Atia dengan berbagai konsentrasi spora *Bacillus thuringiensis*. Serangga uji digunakan larva instar ketiga. Analisis probit digunakan LC_{50} dan LT_{50} . Semua isolat yang dikumpulkan dapat membunuh larva *C.binotalis* pada jam ke 48 setelah perlakuan, berkisar 3-87% tergantung tingkat konsentrasi. Hasil analisis probit menunjukkan bahwa isolat Kp memiliki nilai patogenisitas tertinggi ($LC_{50} = 2,22 \times 10^5$ spora.ml⁻¹) dan Nb dengan

nilai LC_{50} $1,06 \times 10^6$ spora.ml⁻¹. Nilai LT_{50} terendah ditunjukkan Nb ($LT_{50} = 82,5$ jam) dan nilai LT_{50} terendah adalah Kp ($LT_{50} = 92,2$ jam).

M. Keshavarzi. *Isolation, Identification and Differentiation of Local B. thuringiensis Strains*. 2008. Telah dilakukan isolasi pada 514 sampel tanah dan larva mati di daerah Azerbaijan. *Bacillus thuringiensis* diisolasi dengan metode asetat dan diidentifikasi dengan menggunakan uji biokimia. Hasilnya 127 isolat telah dikumpulkan. Sebagian besar isolat menghasilkan Kristal berbentuk atipikal dan heterogenik dan sebagian lagi berbentuk bipiramid.

Lilis Solihat. *Isolasi Bacillus thuringiensis dari Tanah Kandang Ternak untuk Pembuatan Bioinsektisida*. 2005. *Bacillus thuringiensis* diisolasi dari tanah kandang ternak daerah endemik myasis di Kediri terhadap larva *C. bezziana*. Medium yang digunakan adalah medium Nutrient Agar dan Luria Bertani Dapar Asetat 0,25M pH 6,8. Sebanyak 12 sampel tanah kandang dari 26 sampel yang dianalisis menunjukkan hasil yang positif mengandung 121 koloni *Bacillus* sp. Sebanyak 35 isolat *Bacillus thuringiensis* dikoleksi Kristal proteinnya yang kemudian dapat diuji lebih lanjut untuk dikembangkan menjadi bioinsektisida.

Sri Muharsini dan April H. Wardhana. *Uji Efikasi Isolat lokal Bacillus thuringiensis yang mempunyai gen Cry terhadap Lalat Chrysomya bezziana secara in vitro*. 2005. Isolat-isolat lokal *Bacillus thuringiensis* yang telah dikoleksi dari Jawa Barat, Yogyakarta dan Sulawesi Selatan yang mempunyai gen *cry* untuk kontrol lalat *Chrysomya bezziana*. Sebanyak 83 isolat telah disolasi protein kristalnya dengan menggunakan medium T3 dan diuji secara *in vitro* dengan dua metode yang berbeda. Hasil uji menunjukkan bahwa tujuh isolat mempunyai toksisitas yang tinggi, sepuluh isolat mempunyai toksisitas moderat dan sisanya 66 isolat tidak patogen. Isolat-isolat

yang patogen dan moderat tersebut berasal dari Kabupaten Bogor, Sukabumi, Majalengka, Sidendeng Rappang dan DI Yogyakarta.

Asaduzzaman Shishir, dkk. *Characterization of Locally Isolated Bacillus thuringiensis for the Development of Eco-Friendly Biopesticides in Bangladesh*. 2012. *Bacillus thuringiensis* diisolasi dari tiga habitat berbeda di Bangladesh. Sebanyak 61 isolat seperti *Bacillus cereus* diperoleh dengan menggunakan media selektif dan 57 diidentifikasi sebagai isolat *Bacillus thuringiensis* berdasarkan aktivitas hemolitiknya, kehadiran kristal protein parasporal, profil plasmid dan profil kristal protein. Lima bentuk berbeda dari kristal protein parasporal telah diamati dari isolat lokal *Bacillus thuringiensis*, konfirmasi identifikasi strain dengan menggunakan gen 16S rDNA.

N. Wasano, S. Himura dan M. Ohba. *Failure to Recover Bacillus thuringiensis from the Lützow-Holm Bay of Antarctica*. 1998. Total sampel adalah 65 sampel, terdiri dari 19 material floral dan 46 sampel tanah, dikumpulkan dari daerah koastal Teluk Lützow-Holm di Antartika, menguji keberadaan *Bacillus thuringiensis*. Frekuensi sampel yang mengandung bentuk spora aerobik adalah 41,5%.

E. Tujuan dan Kegunaan Penelitian

1. Tujuan Penelitian

- a. Mengetahui apakah isolat bakteri *Bacillus thuringiensis* yang diisolasi dari sampel tanah yang diperoleh dari Kota Makassar memiliki daya bunuh terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*.
- b. Mengetahui seberapa besar potensi toksisitas daya bunuh bakteri *Bacillus thuringiensis* sebagai bioinsektisida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*

2. Kegunaan Penelitian

- a. Sebagai alternatif penanggulangan larva nyamuk yang aman bagi lingkungan.
- b. Mengurangi resistensi larva nyamuk *Aedes aegypti*.
- c. Sebagai bahan referensi yang bermanfaat dalam islam untuk menunjang kesehatan dalam masyarakat.



BAB II

TINJAUAN TEORETIS

A. Isolasi Bakteri

Mikroorganisme di alam dapat diperoleh dalam bentuk tunggal, tetapi pada umumnya mikroorganisme di alam selalu dalam bentuk populasi campuran, baik yang mempunyai hubungan kerabat maupun tidak. Sehingga untuk memperoleh mikroorganisme yang akan digunakan sebagai alat dalam penelitian-penelitian dibutuhkan isolasi mikroorganisme pada tempat di alam yang diperkirakan menjadi habitat dari mikroorganisme tersebut dan mempunyai peranan yang cukup penting pada lingkungan tersebut (Djide dan Sartini, 2008: 299).

Cara isolasi dan identifikasi bakteri adalah merupakan suatu topik yang sangat luas dan hanya dapat dilakukan oleh orang-orang yang telah berpengalaman. Cara-cara ini adalah suatu tantangan yang menarik bagi para mikrobiolog, karena mikroorganisme atau bakteri tersebut terdapat dalam berbagai sumber yang terdiri dari ribuan spesies dan terdapat dalam berbagai habitat (Djide dan Sartini, 2008: 299).

Kunci pokok dalam mempelajari identifikasi mikroorganisme termasuk bakteri adalah adanya kultur murni hasil isolasi mikroorganisme, sehingga identifikasi dapat berhasil dengan baik, apabila diperoleh isolat yang telah murni. Kultur murni adalah suatu koloni yang berasal dari satu sel mikroorganisme atau bakteri. Begitu pentingnya kultur murni dalam identifikasi mikroorganisme (bakteri), maka cara-cara untuk memperoleh kultur murni menjadi sangat fundamental bagi bidang mikrobiologi (Djide dan Sartini, 2008: 300).

Untuk memperoleh biakan murni dapat dilakukan pengenceran dengan menggunakan bahan cair atau bahan padat. Pada mulanya digunakan gelatin sebagai bahan pemat. Gelatin terdiri dari protein sehingga dapat dicerna ataupun dicairkan oleh bakteri. Bahan pemat yang kemudian ditemukan ialah agar yang merupakan polisakarida dari rumput laut. Pada umumnya bakteri tidak dapat mencerna atau mencairkan agar (Lay, 1994: 37).

Teknik-teknik isolasi mikroorganisme menjadi biakan murni, yaitu: (Djide dan Sartini, 2008: 77).

1. Biakan Penyuburan (Enrichment)

Untuk meningkatkan peluang terisolasinya suatu mikroorganisme yang mempunyai beberapa ciri fisiologis atau biokimia yang khas, dapat dilakukan langkah berikut – goresan, sebar atau tuang – dan memindahkan ke dalam medium yang komposisinya dapat menunjang pertumbuhan mikroorganisme yang diinginkan. Dengan prosedur penyuburan ini akan meningkatkan proporsi mikroorganisme yang dikehendaki yang melebihi dari inokulum semula.

2. Isolasi Sel Tunggal

Dengan bantuan manipulator mikro dapat digunakan kuarmikro (microprobe) untuk mengambil satu sel mikroorganisme dari suspensi (kultur), sel tersebut dipindahkan ke dalam medium steril dalam cawan petri.

Metode-metode untuk mengisolasi biakan murni mikroorganisme, yaitu: (Pelczar dan Chan, 1986: 89)

1. Cawan Gores

Inokulum digoreskan di permukaan medium agar nutrient, dalam cawan petri, dengan jarum pindah (lup inokulasi). Di antara garis-garis goresan akan terdapat sel-sel yang cukup terpisah-pisah sehingga dapat tumbuh menjadi koloni-koloni terpisah.

2. Cawan Tebar

Setetes inokulum diletakkan di tengah-tengah medium agar nutrient, dalam cawan petri dan dengan menggunakan batang kaca bengkok yang steril, inokulum itu disebarakan dipermukaan medium. Batang yang sama dapat digunakan untuk menginokulasi piringan kedua untuk menjamin penyebaran sel-selnya dengan baik. Pada beberapa piringan akan muncul koloni-koloni yang terpisah-pisah.

3. Cawan Tuang

Langkah 1: Dengan lup inokulasi, pindahkan satu lup penuh suspensi asal ke tabung A (medium agar cair steril yang agak dingin). Tabung A digelindingkan diantara kedua tangan agar inokulumnya bercampur secara merata. Pemindahan serupa dibuat dari A ke B dan dari B ke C.

Langkah 2: Isi setiap tabung dituangkan ke dalam cawan petri terpisah

Langkah 3: Setelah inkubasi, cawan-cawan diperiksa kalau ada koloni yang terisolasi. Dari cawan yang berisikan koloni yang terisolasi, dapat diisolasi biakan murni mikroorganisme dengan memindahkan sebagian dari satu koloni ke dalam tabung berisi medium steril

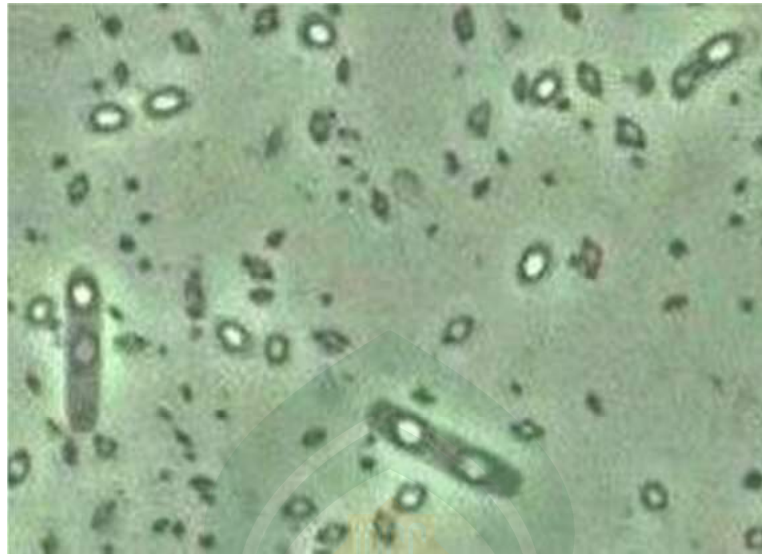
B. Uraian Bakteri *Bacillus thuringiensis*

1. Klasifikasi Bakteri

Kingdom	: Bacteria
Devisi	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Bangsa	: Bacillales
Suku	: Bacillaciae
Marga	: Bacillus
Spesies	: <i>Bacillus thuringiensis</i> (Gordon, 1973)

2. Morfologi Bakteri

Bacillus thuringiensis (Bt) adalah bakteri gram-positif, berbentuk batang, motil, bersifat anaerob fakultatif, bentuk sporanya digunakan secara luas sebagai agen biokontrol terhadap hama. *Bacillus thuringiensis* menghasilkan parasporal kristal, dibentuk oleh racun insektisida yang sangat spesifik. Kristalnya memiliki berbagai bentuk seperti bipiramidal, kuboid, jajaran genjang, bulat atau komposit dengan dua jenis kristal. Racun ini terutama aktif terhadap spesies lepidoptera dan beberapa juga menunjukkan toksisitas terhadap spesies diptera dan koleoptera serta organisme lain tergantung pada varietas spesies. Suhu pertumbuhan optimal untuk *Bacillus thuringiensis* berkisar antara 30°-45°C (Martin, 2010; 204-208). *Bacillus thuringiensis* dapat ditemukan dalam beberapa habitat yang berbeda seperti tanah, bangkai serangga, biji-bijian, tanah pertanian, lingkungan perairan, dll. (Shishir, 2012: 216).



Gambar 1. *Bacillus thuringiensis*

Sumber: Jim Deacon, archive.bio.ed.ac.uk

3. Kristal Protein *Bacillus thuringiensis*

Kristal protein toksin Cry merupakan toksin utama penyebab kematian larva Lepidoptera dan serangga lain yang rentan, karena dapat menimbulkan kerusakan pada sel epithelium dinding usus sehingga menyebabkan terjadinya paralisis usus. Selain Kristal tersebut *Bacillus thuringiensis* juga menghasilkan 3 macam substansi lain yang bersifat sebagai racun terhadap serangga. yaitu: (a) α -eksotoksin yang merupakan suatu enzim yang dihasilkan oleh bakteri yang sedang berkembang berupa fosfolipase C atau lecitinase C. Substansi ini berfungsi memecah fosfolipida esensial dalam jaringan tubuh serangga. (b) β -eksotoksin (*fly-faktor* atau *heatstable exotoxin*) yang merupakan sekresi sel bakteri pada medium sekitarnya yang bersifat larut dalam air, tahan panas, dan dapat menyebabkan kematian serangga karena menghambat sintesis RNA. (c) γ -eksotoksin merupakan toksin yang belum jelas diketahui identifikasinya, namun demikian diduga berfungsi memecah fosfolipid menjadi asam lemak.

Di antara toksin yang dihasilkan oleh *Bacillus thuringiensis* tersebut, yang paling umum dan nyata efek toksisitasnya terhadap serangga pada umumnya adalah β -eksotoksin dan δ -endotoksin. β -eksotoksin dalam tubuh serangga akan menghambat sintesis protein sehingga menyebabkan terganggunya proses *moulting*. Ketidaknormalan secara teratologis mengurangi fekunditas dan umur imago serta terjadinya kematian (Jati, dkk., 2013: 9).

Bacillus thuringiensis termasuk bakteri yang dapat membentuk spora sekaligus kristal protein toksin cry (δ -endotoksin) yang bersifat racun. Kristal protein toksin cry tersebut merupakan glikoprotein yang larut dalam air dan tidak stabil dalam media alkali. Bagi larva Lepidoptera yang memiliki pH usus alkali akan sangat rentan terhadap toksin tersebut (Jati, dkk., 2013: 10).

Kristal protein yang dihasilkan oleh *Bacillus thuringiensis* merupakan protoksin dan toksin yang sesungguhnya timbul setelah adanya proteolisis di dalam saluran pencernaan serangga. Kristal protein yang masuk dalam saluran pencernaan serangga yang rentan terhadap toxin, akan berubah menjadi aktif setelah melalui serangkaian proses, yaitu: (a) kristal masuk ke cairan usus tengah serangga yang bersifat basa akan larut, (b) dalam bentuk protoksin kristal terurai oleh enzim protease dalam usus tengah serangga menjadi fragmen yang lebih beracun, (c) fragmen beracun tersebut terikat pada reseptor khusus yang terdapat pada membran sel ephitelium usus tengah, (d) ikatan reseptor fragmen beracun menyebabkan kebocoran pada epithelium usus tengah, sehingga permeabilitas sel berubah dan mengganggu transfer ion Na^+ dan K^+ , dan (e) sel epithelium usus tengah yang mengalami kebocoran akan mempermudah masuknya spora *Bacillus thuringiensis* dan bakteri lain yang ada di saluran pencernaan ke dalam rongga tubuh

serangga. Gejala awal dari infeksi *Bacillus thuringiensis* adalah berhubungan dengan perilaku makan dan metabolisme. Larva yang terinfeksi akan terlihat kehilangan nafsu makan, diare, paralisis saluran pencernaan dan regurgitasi. Selanjutnya menjadi lemah, tidak mengadakan respon terhadap iritasi, kejang-kejang dan gerakan menjadi tidak teratur (Jati, dkk., 2013: 10).

C. Uraian Nyamuk *Aedes aegypti*

1. Klasifikasi *Aedes aegypti*

Kingdom	: Animalia
Devisi	: Artropoda
Kelas	: Hexapoda
Bangsa	: Diptera
Suku	: Culicidae
Marga	: Aedes
Spesies	: <i>Aedes aegypti</i> (Sembiring, 2011: 27-37)

2. Morfologi *Aedes aegypti*

Nyamuk *Aedes* sp. berukuran sedang (kecil) yang dihiasi oleh kumpulan sisik putih berbentuk bercak atau garis. Pada tarsi didapati dua atau lebih ruas-ruas gelang putih lebar pada basalnya, sekurang-kurangnya pada sepasang kaki terdapat satu atau lebih tarsal putih. Probosis gelap, ramping, dan lurus. Pada kortek dan skutelum susuknya lebar, postspirakular berbulu-bulu dan kuku pada betina bergerigi (Sembiring, 2011: 123).

Tubuh dan tungkainya ditutupi sisik dengan garis-garis putih keperakan. Dibagian punggung (dorsal) tubuhnya tampak dua garis melengkung vertical

dibagian kiri dan kanan yang menjadi ciri dari nyamuk spesies ini (Ginancar, 2007: 19).

Telur nyamuk ini dalam keadaan kering mampu tetap hidup selama bertahun-tahun. Berbagai tempat berair bersih dapat menjadi tempat berkembang biak (*breeding-place*) nyamuk ini, misalnya bak mandi, tempayan penyimpanan air minum, kaleng kosong, ban bekas, lipatan daun, potongan bambu pagar, dan lain sebagainya. Nyamuk dewasa terutama hidup mencari mangsa di dalam rumah atau bangunan (Soedarto, 2008: 257). Telur *Aedes aegypti* mempunyai dinding yang bergaris-garis dan membentuk bangunan menyerupai gambaran kain kasa. Jentik *Aedes aegypti* mempunyai pelana yang terbuka dan gigi sisir yang berduri (Natadisastra, 2009: 316).

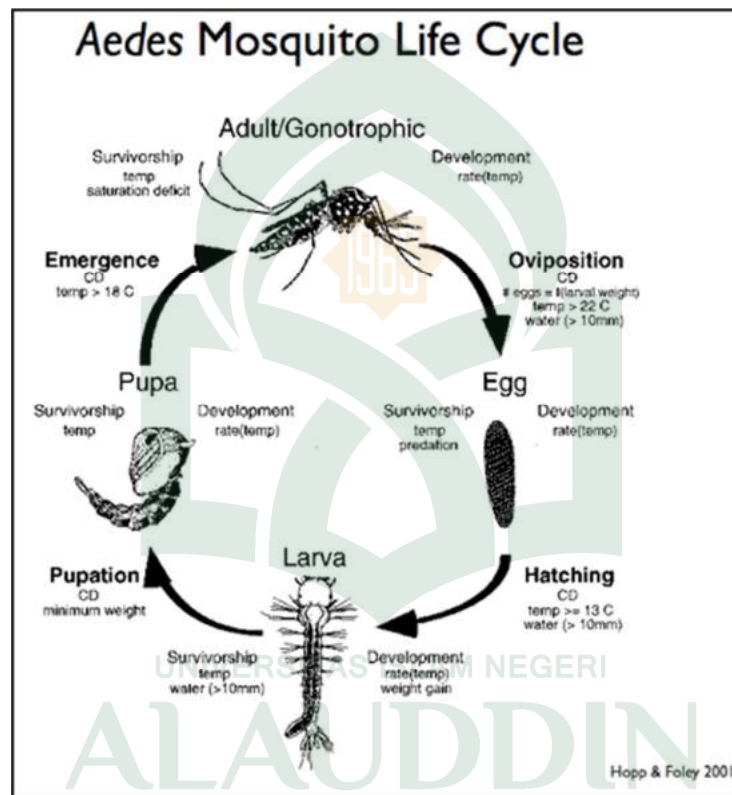
Nyamuk *Aedes* betina mempunyai abdomen yang berujung lancip dan terdapat cerci yang panjang. Larva mempunyai sifon yang gemuk, mempunyai satu pasang *hair tuft* dan *pecten* yang tumbuh tidak sempurna. Telur diletakkan satu-satu pada permukaan air atau pada perbatasan air dan kontainer. Setelah kira-kira dua hari telur menetas menjadi jentik lalu selama proses pertumbuhannya, jentik tersebut mengadakan pengelupasan kulit sebanyak empat kali sehingga tumbuh menjadi pupa dan kemudian menjadi nyamuk dewasa. Pertumbuhan dari telur menjadi dewasa memerlukan waktu kira-kira sembilan hari (Natadisastra, 2009: 316). Semua nyamuk betina *Aedes* menghisap darah pada waktu siang hari, terutama sore hari. Nyamuk *Aedes aegypti* merupakan vektor penular demam dengue atau Demam Berdarah Dengue di Indonesia. *Aedes aegypti* selain merupakan vektor penular demam dengue, nyamuk ini juga adalah vektor utama penular demam kuning (*Yellow fever*) sehingga juga disebut sebagai *yellow fever mosquito*. Spesies ini tersebar luas di dunia di antara

40°Lintang Utara dan 40°Lintang Selatan dan hanya hidup pada suhu Antara 8°-37°C (Soedarto, 2008: 256-257). Tempat istirahat *Aedes aegypti* dapat di dalam maupun di luar rumah berupa semak-semak atau tanaman rendah termasuk rerumputan yang terdapat di halaman, kebun, atau pekarangan rumah, juga berupa benda-benda yang tergantung di dalam rumah seperti pakaian, sarung, kopiah dan lain sebagainya. Umur nyamuk dewasa betina di alam bebas kira-kira sepuluh hari, sedangkan di laboratorium mencapai umur dua bulan. *Aedes aegypti* dengan bantuan angin mampu terbang sejauh radius dua kilometer, walaupun umumnya jarak terbangnya pendek, yaitu kurang lebih 40 meter (Natadisastra, 2009: 316).

Aedes aegypti mengalami metamorfosis sempurna. Nyamuk betina meletakkan telur pada permukaan air bersih secara individual, terpisah satu dengan yang lain, dan menempel pada dinding tempat perindukkannya. Seekor nyamuk betina dapat meletakkan rata-rata sebanyak seratus butir telur tiap kali bertelur. Telur menetas dalam satu sampai dua hari menjadi larva. Terdapat empat tahapan dalam perkembangan larva yang disebut instar. Perkembangan dari instar I ke instar IV memerlukan waktu sekitar empat sampai lima hari. Setelah mencapai instar IV, larva berubah menjadi pupa, pada saat ini pupa memasuki masa dorman. Pupa bertahan selama dua hari sebelum akhirnya nyamuk dewasa keluar dari pupa. Perkembangan dari telur hingga nyamuk dewasa membutuhkan waktu tujuh hingga delapan hari, namun bisa lebih lama bila kondisi lingkungan tidak mendukung (Djakaria, 2000: 235-237).

3. Siklus Hidup *Aedes aegypti*

Masa pertumbuhan dan perkembangan nyamuk *Aedes aegypti* dapat dibagi menjadi empat tahap, yaitu telur, larva, pupa, dan nyamuk dewasa, sehingga termasuk metamorfosis sempurna atau *holometabola* (Soegijanto, 2006).



Gambar 2. Siklus hidup *Aedes aegypti*

Sumber: Hopp MJ and Foley J. 2001; 48: 441-463

a. Stadium Telur

Telur *Aedes aegypti* berwarna hitam dengan ukuran $\pm 0,08$ mm, berbentuk seperti sarang tawon. Telur yang baru dikeluarkan berwarna putih tetapi sesudah 1-2 jam berubah menjadi hitam. Telurnya berbentuk bulat panjang (oval) menyerupai torpedo, mempunyai dinding yang bergaris-garis yang menyerupai sarang lebah. Telur diletakkan satu persatu terpisah di atas permukaan air dalam keadaan menempel

pada dinding tempat perindukannya. Seekor nyamuk betina meletakkan telurnya rata-rata sebanyak 100 butir setiap kali bertelur. Telur dapat bertahan sampai berbulan-bulan dalam suhu 2°-24°C, namun akan menetas dalam waktu 1-3 hari dalam suhu 30°C. Pada kondisi normal telur *Aedes* yang direndam akan menetas sebanyak 80% pada hari pertama dan 95% pada hari kedua. Faktor-faktor yang mempengaruhi daya tetas telur adalah suhu, pH air, perindukan, cahaya, serta kelembaban dan fertilitas telur itu sendiri (Fidiana dkk., 2013; Afidah, 2011: 6).



Gambar 3. Telur *Aedes aegypti*

Sumber: Centers for Disease Control & Prevention and USDA/ARS

b. Stadium Larva (Jentik)

Setelah 2-4 hari telur menetas menjadi larva yang hidup di dalam air. Larva terdiri empat instar dan mengambil makanan dari tempat perindukannya. Pada stadium ini, kelangsungan hidup larva dipengaruhi suhu, pH air perindukan, ketersediaan makanan, cahaya, kepadatan larva, lingkungan hidup, serta adanya predator. Ciri-ciri larva nyamuk *Aedes* adalah memiliki ukuran sekitar 0,5 – 1 cm, gerakannya berulang-ulang dari bawah ke atas permukaan air untuk bernafas kemudian kembali ke bawah dan seterusnya, pada waktu istirahat posisinya hampir tegak lurus dengan permukaan air, mengalami masa pertumbuhan atau instar yaitu:

- 1) Larva *instar* I; berukuran 1-2 mm, duri-duri (*spinae*) pada dada belum jelas dan corong pernapasan pada *siphon* belum jelas.
- 2) Larva *instar* II; berukuran 2,5–3,5 mm, duri–duri belum jelas, corong kepala mulai menghitam.
- 3) Larva *instar* III; berukuran 4-5 mm, duri-duri dada mulai jelas dan corong pernapasan berwarna coklat kehitaman.
- 4) Larva *instar* IV; berukuran 5-6 mm dengan warna kepala gelap (Afidah, 2011: 7-8).

Lamanya perkembangan larva akan bergantung pada suhu, ketersediaan makanan dan kepadatan larva pada sarang. Pada kondisi yang optimum yaitu 25°-27°C, waktu yang dibutuhkan mulai penetasan sampai kemunculan nyamuk dewasa sedikitnya 7 hari, termasuk 2 hari untuk masa menjadi pupa (Fidiana dkk., 2013).



Gambar 4. Larva *Aedes aegypti*

Sumber: Cutwa and George F. O'Meara: 14

c. Stadium Pupa

Pupa *Aedes aegypti* berbentuk seperti koma, berukuran besar namun lebih ramping dibandingkan dengan pupa spesies nyamuk lain. Jika pupa diganggu oleh gerakan atau tersentuh, pupa akan bergerak cepat untuk menyelam dalam air selama beberapa detik kemudian muncul kembali dengan cara menggantungkan badannya

menggunakan tabung pernafasan pada permukaan air di wadah atau tempat perindukan. Setelah berumur 1-2 hari pupa tumbuh menjadi nyamuk dewasa jantan atau betina. Biasanya nyamuk jantan muncul lebih dahulu, walaupun pada akhirnya perbandingan jantan-betina (*sex ratio*) yang keluar dari kelompok telur adalah sama (Fidiana dkk., 2013; Afidah, 2011: 8).



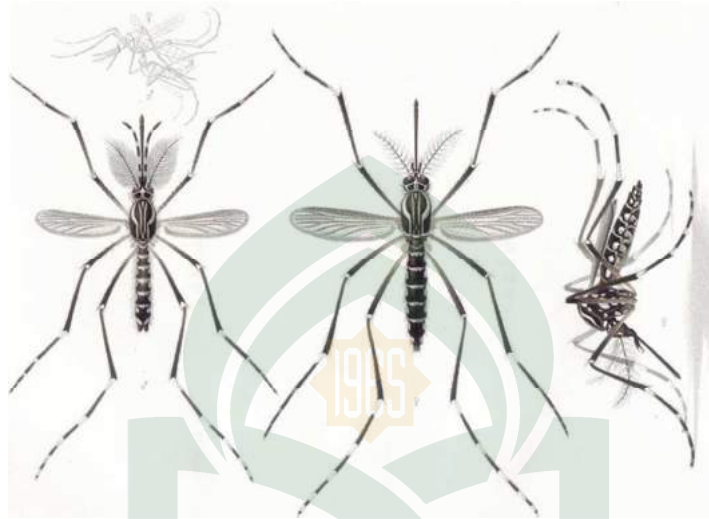
Gambar 5. Pupa *Aedes aegypti*

Sumber: Cutwa and George F. O'Meara: 14

d. Nyamuk dewasa

Nyamuk *Aedes aegypti* dewasa memiliki ukuran sedang dengan tubuh berwarna hitam kecoklatan. Tubuh dan tungkainya ditutupi sisik dengan garis-garis putih keperakan. Di bagian punggung tubuhnya tampak dua garis melengkung vertikal di bagian kiri dan kanan yang menjadi ciri dari spesies ini. Sisik-sisik pada tubuh nyamuk pada umumnya mudah rontok atau terlepas sehingga menyulitkan identifikasi pada nyamuk-nyamuk tua. Ukuran dan warna nyamuk jenis ini kerap berbeda antar populasi, tergantung dari kondisi lingkungan dan nutrisi yang diperoleh nyamuk selama perkembangan. Nyamuk jantan dan betina memiliki perbedaan dalam hal ukuran, nyamuk jantan yang umumnya lebih kecil dari betina dan terdapatnya rambut-rambut tebal pada antena nyamuk jantan. Kedua ciri ini dapat diamati dengan mata telanjang. Waktu yang diperlukan untuk menyelesaikan perkembangan mulai

dari nyamuk menghisap darah hingga bertelur umumnya antara 3-4 hari. Jangka waktunya tersebut disebut sebagai siklus gonotropik (*gonotropic cycle*). (Afidah, 2011: 5-6).



Gambar 6. Beda nyamuk *Aedes aegypti* jantan (kiri) dan betina (tengah).

Sumber: <http://minerdescent.com/2010/08/20/stephen-gates/>

4. Tahap Replikasi *Aedes aegypti*

Menurut Soegijanto (2006), tahap-tahap replikasi dan penularan *virus dengue* terdiri dari:

- virus ditularkan ke manusia melalui saliva nyamuk
- virus bereplikasi dalam organ target
- virus menginfeksi sel darah putih dan jaringan limfatik
- virus dilepaskan dan bersirkulasi dalam darah
- virus yang ada dalam darah terhisap nyamuk yang lain
- virus bereplikasi atau melipatgandakan diri dalam tubuh nyamuk, lalu menginfeksi kelenjar saliva
- virus bereplikasi dalam kelenjar saliva nyamuk *Aedes aegypti* untuk kemudian akan ditularkan kembali ke manusia.

5. Inkubasi Penyakit DBD

Sebelum seseorang terkena DBD, di dalam tubuhnya telah ada satu jenis serotipe virus *dengue* (serangan pertama kali). Biasanya, serangan pertama kali ini menimbulkan demam *dengue*. Ia akan kebal seumur hidup terhadap serotipe yang menyerang pertama kali. Namun, hanya akan kebal maksimal 6 bulan – 5 tahun terhadap serotipe virus *dengue* yang lain. Serangan virus *dengue* kedua kali inilah yang mengakibatkan demam berdarah *dengue* (Satari dkk., 2004 : 7).

Masa inkubasi DBD dimulai dari gigitan samapi timbul gejala, berlangsung selama dua minggu. Darah penderita sudah mengandung virus, yaitu sekitar 1-2 hari sebelum terserang demam. Virus berada dalam darah selama 5-8 hari (Satari dkk., 2004 : 8).

a. Demam

Penyakit DBD didahului terjadinya demam tinggi mendadak secara terus-menerus yang berlangsung selama 2-7 hari. Panas dapat turun pada hari ke-3 yang kemudian naik lagi, dan pada hari ke-6 atau ke-7 panas mendadak turun. Penderita juga sering mengalami mual, muntah, sakit kepala, nyeri otot, nyeri persendian, nyeri tulang, dan perut terasa kembung. Pada bayi, demam yang tinggi dapat menimbulkan kejang atau step (Satari dkk., 2004 : 8).

b. Manifestasi Perdarahan

Pada penderita DBD, biasanya mengalami *trombositopenia* yang mulai ditemukan pada hari ketiga dan berakhir pada hari kedelapan. Selain itu terjadi peningkatan nilai hematokrit yang dikarenakan kebocoran pembuluh darah. Perdarahan dapat terjadi pada semua organ tubuh. Bentuk-bentuk perdarahan yang terjadi dapat berupa:

- 1) *ptechiae* (bintik-bintik darah pada permukaan kulit)
 - 2) *purpura*
 - 3) *ecchymosis* (bintik-bintik darah di bawah kulit)
 - 4) perdarahan konjungtiva
 - 5) perdarahan dari hidung (mimisan atau *epistaksis*)
 - 6) perdarahan gusi
 - 7) *hematensis* (muntah darah)
 - 8) *melena* (buang air besar berdarah)
 - 9) *hematuria* (buang air kecil berdarah)
- c. *Hepatomegaly* atau Pembesaran Hati

Sifat pembesaran hati antara lain ditemukan pada permulaan penyakit dan nyeri saat ditekan dan pembesaran hati tidak sejajar beratnya penyakit.

d. *Shock* atau Renjatan

Shock dapat terjadi pada saat demam tinggi yaitu antara hari ke- 3-7 setelah terjadinya demam. *Shock* terjadi karena perdarahan atau kebocoran plasma darah ke daerah ekstrasvaskuler melalui pembuluh kapiler yang rusak. Tanda-tanda terjadinya *shock* antara lain:

- 1) kulit terasa dingin pada ujung hidung, jari, dan kaki
- 2) perasaan gelisah
- 3) nadi cepat dan lemah
- 4) tekanan nadi menurun (menjadi 20 mmHg atau kurang)
- 5) tekanan darah menurun (tekanan sistolik menjadi 80 mmHg atau kurang)

e. Komplikasi

Penyakit DBD dapat mengakibatkan komplikasi pada kesehatan, komplikasi tersebut dapat berupa kerusakan atau perubahan struktur otak (*encephalopathy*), kerusakan hati, gagal ginjal, sindrom uraemik hemolitik bahkan kematian (WHO, 1999: 24-26).

D. Insektisida

Insektisida adalah bahan kimia yang digunakan untuk memberantas serangga. Berdasar atas stadium serangga yang dituju, maka insektisida dibagi menjadi *imago*sida jika yang menjadi target adalah serangga dewasa, *larva*sida ditujukan terhadap larva dan *ovisida* jika insektisida ditujukan terhadap telur serangga (Soedarto, 2008: 285).

Berdasar atas tempat masuk insektisida ke dalam tubuh serangga, maka insektisida dikelompokkan atas (Soedarto, 2008: 285):

1. Racun kontak (*contact poison*) yang masuk melalui kulit
2. Racun perut (*stomach poison*) yang masuk melalui mulut atau alat pencernaan
3. Fumigans yang masuk melalui saluran pernapasan serangga

Artropoda dikatakan telah kebal atau resisten terhadap suatu insektisida jika dengan dosis yang biasa digunakan, artropoda tersebut tidak dapat dibunuh. Resistensi dapat terjadi karena berbagai sebab, yaitu karena serangga memiliki sistem enzim yang dapat menetralkan racun insektisida, karena adanya timbunan lemak di dalam tubuh serangga yang mampu menyerap insektisida yang masuk dan adanya hambatan lain yang dimiliki serangga untuk mencegah masuknya dan terserapnya insektisida ke dalam tubuh serangga (Soedarto, 2008: 289).

Selain faktor-faktor yang dimiliki artropoda tersebut, faktor lain yang dapat memengaruhi terjadinya resistensi adalah lamanya stadium serangga, *generation time* serangga dan kompleks genetik (*genetic complex*) artropoda (Soedarto, 2008: 289-290).

1. Insektisida yang bekerja terhadap semua stadium serangga baik telur, larva, pupa, maupun dewasa, akan lebih cepat menimbulkan resistensi oleh serangga dibandingkan dengan insektisida yang hanya bekerja pada satu stadium misalnya larva serangga.
2. Serangga yang mempunyai siklus hidup pendek sehingga dalam satu tahun terdapat banyak generasi, lebih cepat resisten terhadap suatu insektisida dibandingkan dengan serangga yang hanya mempunyai satu generasi dalam satu tahun (siklus hidupnya panjang).
3. Semakin banyak gen serangga yang mengatur kemampuan resistensi serangga terhadap insektisida, semakin lambat terjadi resistensi. Jika jumlah gen pengatur resistensi sedikit, serangga cepat resisten terhadap insektisida.

Resistensi dibagi menjadi resistensi bawaan (*natural resistancy*) dan resistensi yang didapat (*acquired resistancy*) (Soedarto, 2008: 290-291).

1. Resistensi bawaan

Serangga yang secara alami sensitif terhadap suatu insektisida akan menghasilkan secara alami keturunan yang juga sensitif terhadap insektisida tersebut. Sedangkan serangga yang secara alami sudah resisten terhadap suatu insektisida, keturunannya juga akan resisten terhadap insektisida bersangkutan. Selain itu serangga yang sensitif terhadap suatu insektisida jika mengalami *mutasi* dapat berkembang menjadi serangga yang resisten terhadap insektisida tersebut.

2. Resistensi didapat

Akibat pemberian dosis insektisida yang di bawah dosis letal dalam waktu yang lama, serangga target yang sebelumnya sensitif dapat menyesuaikan diri berkembang menjadi resisten terhadap insektisida tersebut. Jika suatu jenis serangga telah resisten terhadap suatu insektisida, maka dosis insektisida harus dinaikkan. Jika dosis insektisida terus menerus dinaikkan, maka pada dosis tertentu akan dapat membahayakan kesehatan manusia dan hewan serta berdampak buruk pada lingkungan hidup. Karena itu, insektisida harus diganti dengan insektisida jenis atau golongan lain atau diciptakan insektisida baru untuk memberantas serangga tersebut.

E. Bioinsektisida

Bioinsektisida merupakan salah satu dari beberapa jenis pestisida yang dapat digunakan untuk mengendalikan hama berupa serangga. Bioinsektisida dapat dibedakan menjadi dua, yaitu ovisida dan larvisida. Ovisida khusus digunakan untuk mengendalikan telur serangga, sedangkan larvisida khusus digunakan untuk mengendalikan larva serangga. Bioinsektisida memanfaatkan bakteri, cendawan, jamur, nematoda untuk membunuh hama serangga. Bioinsektisida juga merupakan insektisida generasi baru dan sangat dianjurkan untuk digunakan dalam PHT (Pengendalian Hama Terpadu) (Djojsumarto, 2008: 5).

Bioinsektisida (insektisida mikrobial) merupakan produk yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang dapat membunuh hama serangga dan vektor pembawa penyakit. Insektisida mikrobial didefinisikan juga sebagai racun biologis yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang dapat membunuh serangga (*entomopathogen*). Sebagai *entomopathogen*, insektisida mikrobial dapat dikembangkan dari bakteri, virus, fungi, dan protozoa. Bakteri yang paling banyak digunakan untuk

memproduksi bioinsektisida adalah *Bacillus*. Bakteri ini mampu membentuk δ -endotoksin yang bersifat toksin terhadap larva serangga. Penggunaan bioinsektida ditujukan untuk menggantikan insektisida kimia yang banyak digunakan selama ini. Bioinsektisida memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan insektisida kimia. Keunggulan tersebut adalah sifat dari bioinsektisida yang spesifik terhadap hama serangga sehingga tidak membahayakan organisme non target lainnya, penggunaannya aman, dan bersifat ramah lingkungan karena tidak menyebabkan terjadinya penumpukan residu pada hasil pertanian dan dalam tanah. Penggunaan insektisida kimia dengan dosis dan frekuensi yang tinggi menjadikan serangga vektor penyakit menjadi resisten terhadap insektisida kimia tersebut dan menyebabkan terganggunya keseimbangan ekosistem .

F. Tinjauan Islam Mengenai Isolasi Bakteri

Melihat kekuasaan dan keagungan Allah bukanlah perkara yang sulit. Di alam raya ini tak terhitung banyaknya tanda-tanda yang menunjukkan hal itu. Semuanya dapat kita saksikan dengan mata dan indra kita dan dengan anggota-anggota tubuh yang lain. Bahkan, pada diri kita sendiri pun luar biasa banyaknya tanda kekuasaan Allah jika kita mau memikirkannya.

Sesungguhnya kepunyaan Allah-lah kerajaan langit dan bumi, dan Allah Maha Kuasa atas segala sesuatu. Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal. Dan sesungguhnya, tiadalah Allah menciptakan semuanya ini dengan sia-sia, sebagaimana telah dijelaskan dalam firman Allah QS Āli-Imrān/3: 191, yaitu:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمٰوٰتِ وَالْاَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ
هٰذَا بَطِلًا سُبْحٰنَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

Terjemahnya:

(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia. Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka (Departemen Agama RI, 2008: 75).

Ayat di atas menjelaskan sebagian ciri-ciri yang dinamai *Ulul Albâb*, mereka adalah orang-orang, baik laki-laki maupun perempuan, yang terus-menerus mengingat Allah, dengan ucapan dan atau hati dalam seluruh situasi dan kondisi saat bekerja atau istirahat. Dari ayat di atas bahwa objek zikir adalah Allah, sedang objek pikir adalah makhluk-makhluk Allah berupa fenomena alam. Ini berarti pengenalan kepada Allah lebih banyak didasarkan kepada kalbu, sedang pengenalan alam raya oleh penggunaan akal, yakni berpikir. Akal memiliki kebebasan seluas-luasnya untuk memikirkan fenomena alam, tetapi ia memiliki keterbatasan dalam memikirkan zat Allah. Manusia yang membaca lembaran alam raya, niscaya akan mendapatkan-Nya (Shihab, 2002: 372-375).

Langit dengan ketinggian dan keluasannya, dan bumi dengan kerendahannya, keluasan, dan kepadatannya, serta segala yang terdapat di antara keduanya merupakan tanda-tanda kekuasaan-Nya yang sangat agung dan dapat kita saksikan, yang terdiri dari bintang-bintang yang tetap dan yang berpindah-pindah, lautan, pegunungan, pepohonan, tumbuh-tumbuhan, tanaman, buah-buahan, hewan, pertambangan, mikroorganisme, berbagai macam warna, aroma, serta keistimewaan lainnya (Al-Hilal, 2005: 275).

Demikian juga dengan pergantian siang dan malam, pergantian masa (panjang dan pendek) di antara keduanya. Dalam kesemuanya itu terdapat bukti yang sangat jelas sekaligus dalil yang kuat bagi orang-orang yang berakal sehat yang

memahami hakikat berbagai hal secara nyata, sehingga mereka tergerak untuk selalu berdzikir kepada Allah dalam segala keadaan mereka. Selain itu, mereka juga meyakini bahwa hikmah-hikmah dan berbagai nikmat yang lapang dan sempurna ini merupakan bukti yang menunjukkan keagungan dan kekuasaan serta kebijaksanaan al-Khaliq, pilihan dan rahmat-Nya. Dia tidak akan pernah menciptakan sesuatu yang sia-sia dan tanpa guna dan tidak akan membiarkannya begitu saja, tetapi sebaliknya Dia menciptakannya secara sungguh-sungguh dan akan memberikan balasan kejahatan terhadap orang-orang yang berbuat jahat dan balasan kebaikan terhadap orang-orang yang berbuat kebaikan (Al-Hilal, 2005: 275). Suatu contoh dan bahan renungan buat kita, bahwasanya segala yang ada, baik di bumi, langit atau angkasa, pada dasarnya adalah ciptaan Allah semua dan tiadalah yang sia-sia. Allah menciptakan makhluk mulai yang besar, seperti matahari, bumi bulan dan planet-planet, sampai makhluk yang kecil seperti semut, rerumputan hingga bakteri yang tidak tampak mata atau yang lebih kecil lagi, yaitu sel. Seluruh makhluk yang ada adalah ciptaan Allah. Tidak ada benda yang muncul secara tiba-tiba, tanpa ada yang menciptakan.

Dijelaskan pula dalam firman Allah QS Al-Hadid/57: 4, yaitu:

هُوَ الَّذِي خَلَقَ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضَ فِي سِتَّةِ أَيَّامٍ ثُمَّ اسْتَوَىٰ عَلَى الْعَرْشِ يَعْلَمُ مَا يَلِجُ فِي الْأَرْضِ وَمَا يَخْرُجُ مِنْهَا وَمَا يَنْزِلُ مِنَ السَّمَاءِ وَمَا يَعْرُجُ فِيهَا وَهُوَ مَعَكُمْ أَيْنَ مَا كُنْتُمْ ۚ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ بَصِيرٌ

Terjemahnya:

Dialah yang menciptakan langit dan bumi dalam enam masa; kemudian Dia bersemayam di atas 'Arsy. Dia mengetahui apa yang masuk ke dalam bumi dan apa yang keluar dari dalamnya, apa yang turun dari langit dan apa yang naik ke sana. Dan Dia bersama kamu di mana saja kamu berada. Dan Allah Maha Melihat apa yang kamu kerjakan (Departemen Agama RI, 2008: 538).

Pada ayat di atas diterangkan, bahwa Allah menciptakan langit dan bumi beserta semua yang terdapat pada keduanya. Dialah yang mengaturnya dengan sistem yang telah ditentukan-Nya dalam enam masa, lalu Dia bersemayam di atas ‘Arsy yang sesuai dengan kebesaran dan kesucian-Nya. Dari sanalah diatur seluruh kerajaan dengan hikmat dan bijaksana. Dianugerahkan-Nya kepada sebagian hamba-hamba-Nya petunjuk-petunjuk yang dapat membawa mereka kepada jalan yang sempurna untuk mengabdikan dan bersyukur kepada-Nya sehingga mereka dapat hidup bahagia di dunia dan di akhirat (Departemen Agama RI, 2010: 666).

Dia mengetahui semua makhluk-Nya yang masuk ke dalam bumi, tidak ada sesuatu pun yang luput dari pengetahuan-Nya dan Dia pun mengetahui apa-apa yang keluar dari bumi, yang berupa tumbuh-tumbuhan, tanam-tanaman dan buah-buahan serta benda yang berupa emas, perak, minyak bumi dan lain-lain sebagainya (Departemen Agama RI, 2010: 666).

Ayat di atas juga menjelaskan bahwa isi langit dan isi bumi bertasbih kepada-Nya, baik dengan lisan *maqal*-nya maupun lisan *hal*-nya. Allah juga menjelaskan bahwa semua alam berada di bawah kekuasaan-Nya, tidak seorangpun yang dapat menentang-Nya. Dialah yang mendahului semua yang maujud. Dia yang nyata-nyata dalil maujud-Nya dan mata tak mampu memandang Zat-Nya (Ash-Shiddieqy, 2000: 4105).

Dalam hadits sahih juga dijelaskan, yaitu:

حَدَّثَنَا أَحْمَدُ بْنُ حَنْبَلٍ حَدَّثَنَا يَحْيَى بْنُ الْمُبَارَكِ عَنْ ابْنِ عَجَلَانَ عَنْ سَعِيدِ الْمُقْبَرِيِّ عَنْ أَبِي هُرَيْرَةَ قَالَ قَالَ رَسُولُ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ إِذَا وَقَعَ الدُّبَابُ فِي إِنَاءٍ أَحَدِكُمْ فَاْمَقْلُوهُ فَإِنَّ فِي أَحَدٍ جَنَاحَيْهِ دَاءٌ وَفِي الْآخَرِ شِفَاءٌ وَإِنَّهُ يَبْقَى بِجَنَاحِهِ الَّذِي فِيهِ الدَّاءُ فَلْيَغْمِسْهُ كُلُّهُ

Artinya:

Telah menceritakan kepada kami [Ahmad bin Hanbal] telah menceritakan kepada kami [Bisyr bin Al Mufaddlal] dari [Ibnu 'Ajlān] dari [Sa'id Al Maqburi] dari [Abu Hurairah] ia berkata, Rasulullah shallallahu 'alaihi wasallam bersabda: “Jika ada lalat jatuh ke dalam bejana salah seorang dari kalian maka celupkanlah lalat tersebut, karena sesungguhnya di dalam salah satu sayapnya terdapat penyakit dan pada sayap yang lain terdapat obat. Sesungguhnya lalat tersebut melindungi diri dengan sayap yang padanya terdapat penyakit, maka celupkanlah semuanya”.

Hadits di atas mengindikasikan bahwa Allah telah menciptakan segala penyakit beserta obatnya dalam satu waktu pada lalat. Kemudian Allah menyatukan keduanya (Mahmud, 2007: 47-48).

Hadits ini makin memperkuat dan membenarkan anjuran mencelupkan lalat pada cairan atau makanan yang dihinggapi lalat agar membunuh virus-virusnya sendiri. Allah berfirman dalam QS Fussilat/41: 53, yaitu:

سَنُرِيهِمْ ءَايَاتِنَا فِي الْآفَاقِ وَفِي أَنْفُسِهِمْ حَتَّىٰ يَتَبَيَّنَ لَهُمْ أَنَّهُ الْحَقُّ ۗ أَوَلَمْ يَكْفِ بِرَبِّكَ أَنَّهُ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ شَهِيدٌ

Terjemahnya:

Kami akan memperlihatkan kepada mereka ayat-ayat (fenomena penciptaan) Kami disemua ufuk langit dan pada diri mereka sendiri, sehingga nyatalah bagi mereka bahwa Al-Qur'an itu benar (hak). Apa belum cukup bahwa Tuhanmu itu menyaksikan segala sesuatu? (Ash-Shiddieqy, 2000: 3681).

Banyak ilmu modern pada abad-abad sekarang ini yang membenarkan teori-teori yang ada dalam Al-Qur'an mengenai hujan, awan, langit, bumi, dan lain-lain (Ash-Shiddieqy, 2000: 3681).

Ayat di atas adalah jembatan antara sains dan Al-Qur'an. Hal ini mengisyaratkan penemuan-penemuan sains masa kini yang berkaitan dengan alam dan manusia akan menampakkan kebenaran Al-Qur'an. Penemuan-penemuan sains

masa kini dapat dimanfaatkan bagi memahami ayat-ayat tertentu dalam Al-Qur'an (Abidin. 2007: 21).

Ayat di atas juga menjelaskan yakni jika mereka masih meragukan kebenarannya. Seperti yang ada di langit dan di bumi, serta segala kejadian yang besar yang menunjukkan kepada kebenaran, berupa indahnya ayat-ayat Allah dan keajaiban penciptaan-Nya, dan besar kekuasaan-Nya. Demikian pula dengan ditimpanya hukuman kepada orang-orang yang mendustakan dan ditolong-Nya. Dari ayat-ayat itu, demikian pula isinya. Allah telah melakukannya, Dia telah memperlihatkan kepada hamba-hamba-Nya ayat-ayat yang dengannya semakin jelas kebenaran. Akan tetapi, Allah akan memberi taufik kepada keimanan siapa yang Dia kehendaki dan akan menelantarkan siapa yang Dia kehendaki. Yakni tidak cukupkah bagi mereka persaksian Allah bahwa Al-Qur'an adalah benar dan yang membawanya juga benar.

Dijelaskan pula dalam hadits mengenai penyebaran penyakit, yaitu:

عَنْ عَبْدِ اللَّهِ بْنِ عَمْرٍو أَنَّ عُمَرَ خَرَجَ إِلَى الشَّامِ فَلَمَّا كَانَ بِسَرِغَ بَلَغَهُ أَنَّ الْوَبَاءَ قَدُ وُفِّحَ بِالشَّامِ فَأَخْبَرَهُ
عَبْدُ اللَّهِ بْنَ عَمْرٍو أَنَّ رَسُولَ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ قَالَ إِذَا سَمِعْتُمْ بِهِ لَطَأً عَنْ بَيْتٍ بِأَرْضٍ فَلَا تَقْدُمُوا عَلَيْهِ
وَإِذَا وُفِّحَ بِأَرْضٍ وَأَنْتُمْ بِهَا فَلَا تَقْدُمُوا عَلَيْهِ وَإِذَا وُفِّحَ بِأَرْضٍ وَأَنْتُمْ بِهَا فَلَا تَخْرُجُوا فِرَارًا مِنْهُ .

Artinya:

Dari 'Abdullah bin Amir r.a., 'Umar melakukan perjalanan ke Syam. Setelah ia sampai di Sargh, datang berita bahwa di Syam sedang berjangkit penyakit menular. Lalu 'Abdurrahman bin 'Auf menceritakan kepadanya bahwa Rasulullah berkata: "Kalau kamu mendengar penyakit menular berjangkit di suatu negeri, janganlah kamu pergi ke sana. Tetapi kalau penyakit itu berjangkit di negeri di mana kamu berada, janganlah kamu ke luar dari padanya melarikan diri" (Al-Bukhary, 2009: 38).

Makruh keluar dari daerah yang terkena wabah dan makruh memasukinya bagi orang luar. Larangan memasuki daerah yang terjangkit wabah dan larangan

keluar dari daerah wabah untuk menyelamatkan diri. Hal ini sama sekali tidak bertentangan dengan konsep tawakal kepada Allah, karena melakukan usaha (*asbab*) dan menjauhi tempat-tempat yang berbahaya adalah bagian dari tawakal. Selain itu, ayat ini juga menjelaskan tentang adanya penyakit menular dan fenomena penyebaran penyakit atas izin Allah *Ta'ala* (Nawawi, 2011: 945).

Jadi, apabila terjadi wabah *tha'un* (penyakit menular) disebuah daerah (sedangkan kita berada di dalamnya), maka kita dilarang keluar dari tempat tersebut untuk lari darinya. Dan jika terjadi wabah *tha'un* di sebuah tempat (sedangkan kita berada di luar tempat tersebut) maka dilarang untuk mendatangi tempat tersebut (Al-Utsaimin, 2008: 179).

Rasulullah telah melarang umatnya memasuki daerah yang terkena wabah dan melarang orang yang sedang berada di daerah tersebut keluar darinya. Ini merupakan tindakan preventif dari Beliau. Sebab memasuki daerah yang terjangkit wabah berarti tindakan menantang mara bahaya. Tidak memasukinya merupakan tindakan pencegahan agar tidak mewabah di daerahnya dan penjagaan seorang insan terhadap dirinya. Dan itu (memasuki daerah wabah) merupakan tindakan yang bertentangan dengan syariat dan akal. Bahkan menghindar dari daerah tersebut termasuk bab penjagaan diri yang dianjurkan Allah, yakni penjagaan diri dari daerah mukim dan udara yang sudah tercemar oleh wabah penyakit. Adapun maksud larangan masuk ke daerah yang sudah terjangkit penyakit merupakan perintah untuk menjaga dan membentengi diri dan larangan untuk mendatangi perkara yang dapat mengakibatkan kebinaasaan. Adapun larangan keluar dari daerah tersebut merupakan perintah untuk bersikap tawakal, menyerah dan pasrah terhadap ketentuan Allah (Al-Hilali, 2005: 210-211).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis dan Lokasi Penelitian

1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimen.

2. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Aluddin Makassar, Samata-Gowa.

B. Pendekatan Penelitian

Pendekatan penelitian yang digunakan adalah dengan menggunakan metode Probit Analisis.

C. Populasi dan Sampel

Populasi adalah semua tanah kebun yang berada di daerah Makassar yang diambil pada Juni 2014. Sampel yang digunakan yaitu sampel tanah yang diambil di daerah Antang yang berwarna coklat kehitaman dan untuk uji bioinsektisida *Bacillus thuringiensis*, sampel yang digunakan adalah larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III yang diperoleh dari tempat-tempat penampungan air bersih, seperti kaleng-kaleng bekas, vas bunga, ban-ban bekas, dll.

D. Metode Pengumpulan Data

1. Pengambilan sampel

Sampel tanah kebun yang digunakan diambil sekitar 50 gram pada daerah 2-5 cm di bawah permukaan tanah dan dimasukkan ke dalam kantong plastik berukuran 100 gram. Sampel disimpan di lemari pendingin pada suhu 4°C sampai siap digunakan.

2. Isolasi Bakteri *Bacillus thuringiensis*

Isolasi bakteri yang dilakukan berdasarkan metode Ohba dan Aizawa (1986). Disuspensikan 1 gram tanah dalam 9 ml larutan air steril dalam botol secara aseptik, dikocok 3-5 menit dan dipanaskan pada suhu 80°C selama 30 menit; campuran ini merupakan pengenceran 10^{-1} . Sebanyak 1 ml supernatan suspensi sampel tanah tersebut dipindahkan ke tabung berisi aquades steril dan dibuat pengenceran bertingkat sampai 10^{-6} . Dimasukkan 0,1 ml cairan dari pengenceran 10^{-4} sampai 10^{-6} dalam 2 cawan petri. Diinokulasikan ke dalam media Nutrient Agar (NA) dengan cara sebar lalu dihomogenkan. Dibiarkan membeku dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1-2 hari.

3. Karakterisasi Sel dan Koloni Bakteri

Setelah diinkubasi, koloni bakteri dengan ciri morfologi yang menunjukkan koloni *Bacillus thuringiensis*. yaitu bulat, tidak ada lendir, kurang atau tidak mengkilap, permukaan agak kasar dan berwarna putih suram atau putih kekuningan, dipindahkan ke medium Nutrient Agar yang baru, diberi nomor.

Isolat yang telah dipindahkan, kemudian diamati bentuknya pada media NA tegak, NA miring dan pada media Nutrient Broth (NB).

- a. Media Nutrient Agar (NA) dipipet 10 ml dan dibiarkan memadat dalam tabung reaksi dengan posisi tegak, setelah memadat kemudian diinokulasikan isolat mikroba secara tusukan dengan ose lurus dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Pengamatan dilakukan dengan melihat bentuk koloninya.
- b. Media Nutrient Agar (NA) dipipet 10 ml ke dalam tabung reaksi kemudian dimiringkan dan dibiarkan memadat. Setelah memadat, diinokulasikan isolat mikroba dengan cara digoreskan dengan menggunakan ose bulat. Diinkubasi pada

suhu 37°C selama 1x24 jam. Pengamatan dilakukan dengan melihat bentuk koloni.

- c. Media Nutrient Broth (NB) dipipet 10 ml ke dalam tabung reaksi, kemudian diinokulasikan isolat mikroba dengan ose lurus. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Pengamatan dilakukan dengan melihat bentuk koloni, warna dan keadaan permukaan.

Selain itu dilakukan juga pengecatan Gram dan Pengecatan Spora

- a. Pengecatan Gram dilakukan dengan membuat preparat ulas, kemudian difiksasi di atas api. Ditetesi larutan Kristal violet (cat Gram A) selama 1 menit lalu dicuci dengan air. Setelah itu, ditetesi dengan larutan lugol (cat Gram B) selama 1 menit. Ditetesi larutan pemucat seperti alkohol atau aseton (cat Gram C) selama 10-20 detik, lalu dicuci dengan air. Diberi larutan safranin (cat Gram D) selama 15 detik dan dicuci dengan air, kemudian dikeringkan dengan kertas saring. Diperiksa dengan mikroskop untuk melihat bentuk sel dan warna sel.
- b. Pengecatan Spora atau *Schaeffer-Fulton* dilakukan dengan membuat preparat ulas dari isolat yang disediakan, kemudian ditempatkan preparat ulas pada rak pewarnaan. Setelah itu dipanaskan preparat ulas yang telah ditetesi warna hijau malakit. Sebelum meneteskan zat warna hijau malakit, ditempatkan kertas saring di atas preparat ulas. Didinginkan preparat selama 1 menit sebelum meneruskan pewarnaan. Dikeluarkan kertas saring dari preparat kemudian preparat dicuci dengan air. Diberi zat warna safranin selama 60 detik kemudian dicuci dengan air. Diperiksa preparat dengan menggunakan mikroskop untuk melihat letak dan keberadaan spora.

Setelah melakukan pemeriksaan Gram dan spora, kemudian dilanjutkan dengan isolasi dengan menggunakan media selektif. Isolat yang telah diperoleh dipindahkan ke media selektif, yaitu dengan cara sebanyak satu ose koloni bakteri *Bacillus* sp. dari medium NA diinokulasikan ke dalam 10 ml medium cair Luria Bertani (LB) dengan asetat (0,25M, pH 6,8). Kultur cair bakteri tersebut dibiarkan tumbuh selama 1x24 jam dan dikocok dengan kecepatan 150 rpm pada suhu 25°C dengan menggunakan *shaker*. Kultur cair tersebut kemudian dipanaskan pada suhu 80°C selama 5 menit. Setelah dingin, sebanyak 0,1 ml kultur cair disebar di atas media Luria Bertani (LB) padat pH 7,2. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam.

Setelah isolat diperoleh, kemudian dilakukan uji Biokimia untuk memastikan isolat yang ditemukan adalah isolat *Bacillus thuringiensis*.

a. Uji motilitas

Media SIM dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi masing-masing sebanyak 10 ml, tabung pertama diisi dengan isolat biakan dengan cara ditusukkan dan tabung yang kedua sebagai kontrol, kemudian diinkubasi 1x24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif menunjukkan adanya pertumbuhan di sekitar daerah tusukan.

b. Uji pencairan gelatin

Media gelatin dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi masing-masing sebanyak 10 ml, tabung pertama diisi dengan isolat biakan dan tabung yang kedua sebagai kontrol, kemudian diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Dimasukkan semua tabung ke dalam lemari pendingin. Bila terjadi pencairan gelatin, maka media akan tetap cair, hal ini menunjukkan hasil yang positif.

c. Uji sitrat

Media SCA dimasukkan ke dalam 2 cawan petri masing-masing 10 ml dan dibiarkan memadat. Cawan petri pertama diisi dengan isolat biakan dan cawan kedua sebagai kontrol. Diinkubasi 1x24 jam pada suhu 37°C diamati perubahan yang terjadi. Bila terjadi perubahan warna menjadi hijau maka hasil positif.

d. Uji hidrolisis urea

Media Urea Broth dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi masing-masing sebanyak 10 ml, dibiarkan memadat, tabung reaksi pertama diisi dengan isolat biakan, tabung kedua sebagai kontrol. Diinkubasi 1x24 jam pada suhu 37°C. Bila positif menghidrolisis urea maka terjadi perubahan warna menjadi merah.

e. Uji glukosa

Media Phenol Red Glukose Broth dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi masing-masing sebanyak 10 ml. Tabung reaksi pertama diisi dengan isolat biakan, tabung kedua sebagai kontrol. Diinkubasi 1x24 jam pada suhu 37°C. Adanya perubahan warna merah menjadi kuning dan timbulnya gelembung dalam tabung durham menunjukkan hasil yang positif.

f. Uji arabinosa

Media Methylene Blue Arabinose Broth dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi masing-masing sebanyak 10 ml. Tabung reaksi pertama diisi dengan isolat biakan, tabung kedua sebagai kontrol. Diinkubasi 1x24 jam pada suhu 37°C. Adanya perubahan warna biru menjadi hijau dan timbulnya gelembung udara di dalam tabung durham menunjukkan hasil yang positif.

g. Uji Manitol

Media Methylene Blue Mannitol Broth dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi masing-masing sebanyak 10 ml. Tabung reaksi pertama diisi dengan isolat biakan, tabung kedua sebagai kontrol. Diinkubasi 1x24 jam pada suhu 37°C. Adanya perubahan warna biru menjadi hijau dan timbulnya gelembung pada tabung durham menunjukkan hasil positif.

h. Uji pertumbuhan pada beberapa variasi suhu

Media Nutrient Broth (NB) dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi, diinokulasikan biakan bakteri ke dalam tiap tabung. Diinkubasi selama 1x24 jam, tabung pertama diletakkan di dalam lemari pendingin suhu 4°C, suhu ruang 25°C, dan suhu inkubator 37°C. Adanya kekeruhan menunjukkan hasil positif.

i. Uji pertumbuhan pada beberapa variasi pH

Media Nutrient Broth (NB) dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi, tabung pertama ditambahkan asam asetat hingga pH 3, tabung ketiga ditambahkan natrium hidroksida hingga pH 10 dan tabung kedua tidak diberikan penambahan apapun. Kemudian diinokulasikan biakan bakteri ke dalam tiap tabung. Diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Diamati perubahan yang terjadi. Adanya kekeruhan menunjukkan hasil positif.

Untuk menyeleksi isolat potensial di antara semua isolat yang diperoleh dilakukan *screening* berdasarkan uji daya bunuh isolat terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*. *Screening* dilakukan dengan mengambil kultur isolat sebanyak 0,5 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi air steril dan larva nyamuk *Aedes aegypti* kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 1x24 jam.

Setelah dilakukan uji *screening* dan didapatkan isolat yang potensial maka dilakukan fermentasi isolat untuk memperbanyak biakan spora. Isolat *Bacillus thuringiensis* diinokulasikan ke dalam media T3 cair dan diinkubasi selama 3-4 hari sambil di shaking dengan kecepatan 150 rpm. Hasil inokulum tersebut disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 3000 rpm hingga terpisah filtrat dan endapannya. Dibuat konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25% dan 1 perlakuan kontrol dari endapan yang telah diperoleh dan diujikan pada larva nyamuk *Aedes aegypti*.

4. Penyiapan Larva Uji

Larva uji diperoleh dari tempat penampungan air bersih yang umumnya untuk keperluan rumah tangga seperti bak penyimpanan, kaleng-kaleng bekas, vas bunga, tempat minum burung, ban-ban bekas, dll. Larva-larva yang ada kemudian diidentifikasi untuk mendapatkan larva nyamuk *Aedes aegypti*. Larva nyamuk hasil identifikasi dibiarkan dalam ruangan tertutup kain kasa untuk memberikan kesempatan berkembangbiak dan menghasilkan larva generasi kedua yang siap untuk diujikan dalam uji daya bunuh.

5. Uji Daya Bunuh

Biakan bakteri berumur 3-4 hari pada media T3 dipanen dan disuspensikan dengan larutan ringer steril. Larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III sejumlah 10 ekor dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi larutan uji dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25%. Gejala sakit dan perilaku larva diamati 6 jam setelah perlakuan, sedangkan kematian larva diamati setelah 24 jam setelah perlakuan dan untuk kontrol digunakan air steril tanpa penambahan larutan uji.

E. Instrumen Penelitian

Alat yang digunakan adalah autoklaf (*Hirayama*[®]), botol coklat, cawan petri (*Iwaki Pyrex*[®]), gelas erlenmeyer 250 ml, 100 ml, 50 ml (*Iwaki Pyrex*[®]), gelas kimia 250 ml (*Iwaki Pyrex*[®]), gelas ukur 50 ml, 10 ml (*Iwaki Pyrex*[®]), inkubator (*Memmert*[®]), kaca preparat, kompor gas (*Rinnai*[®]), *Laminar Air Flow Cabinet* (*ESCO*[®]), lampu spiritus, lemari pendingin, mikroskop (*Yazumi*[®]), *mixer* (*Vortex*[®]), ose bulat, ose lurus, oven (*Memmert*[®]), pH meter, pipet tetes, rak tabung, spoit (*One Med*[®]), sentrifugasi, *shaker* (*Heidolph Unimax 2010*[®]), tabung reaksi (*Iwaki Pyrex*[®]), tabung sentrifus (*Iwaki Pyrex*[®]), dan timbangan analitik (*AND*[®]).

Bahan yang digunakan adalah Agar, Air suling (H_2O), etanol 70% (C_2H_5OH), *extract yeast* (*DIFCO*[®]), isolat bakteri *Bacillus thuringiensis* hasil isolasi, kristal violet, larva *Aedes aegypti* instar III sebagai serangga uji, *malachit green*, mangan klorida ($MnCl$), media gelatin, media Luria Bertani (LB) dapar asetat 0,25M pH 6,8; media Nutrient Agar (*Merck*[®]), media Nutrient Broth (*Merck*[®]), media methylene blue arabinose, phenol red glucose, media methylene blue mannitol, media SIM, media T3, media urea broth, natrium asetat (CH_3COONa), natrium klorida ($NaCl$), natrium sitrat ($C_6H_7NaO_7$), pepton, pepton water (*Oxoid*[®]), reagen ehrlich, safranin, triptose, yodium,

F. Teknik Pengolahan dan Analisis Data

Nilai *Lethal Concentration* 50 dari hasil uji daya bunuh isolat *Bacillus thuringiensis* terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III dianalisa dengan Analisa probit.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Pengamatan

1. Lokasi pengambilan sampel

Pengambilan sampel tanah dilakukan di lahan-lahan kebun yaitu di daerah Antang. Jumlah sampel tanah yang diambil di daerah tersebut adalah 3 sampel tanah dari tiga titik yang berbeda.

2. Isolasi bakteri *Bacillus thuringiensis*

Dari hasil isolasi *Bacillus thuringiensis* yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar menurut metode Ohba dan Aizawa berhasil diperoleh isolat bakteri yang memiliki ciri-ciri morfologi dari bakteri *Bacillus thuringiensis* yaitu sebanyak 19 isolat dan dilanjutkan dengan uji identifikasi yang didasarkan pada pengecatan Gram dan pengecatan spora diperoleh 11 isolat yang mengandung bakteri *Bacillus* sp.

Pengamatan dilakukan dengan melihat bentuk morfologi dan warna dari isolat bakteri, warna biru menunjukkan bakteri Gram positif dan warna merah menunjukkan bakteri Gram negatif.

Tabel 1. Hasil pengecatan Gram dan pengecatan spora

No.	Isolat	Pengecatan Gram dan Spora			
		Warna	Bentuk	Spora	Keterangan
1.	B ₅ 6	Biru	Basil	+	Positif
2.	B ₆ 9	Biru	Basil	+	Positif
3.	C ₆ 3	Merah	Basil	+	Negatif

4.	C ₄ 10	Biru	Basil	+	Positif
5.	No.1	Merah	Basil	-	Negatif
6.	No.2	Biru	Basil	+	Positif
7.	No.4	Biru	Basil	+	Positif
8.	No.5	Merah	Basil	-	Negatif
9.	No.6	Merah	Basil	-	Negatif
10.	No.7	Biru berkapsul	Basil	+	Negatif
11.	No.8	Merah	Basil	+	Negatif

3. Pemurnian Isolat Bakteri *Bacillus thuringiensis*

Dilakukan pengujian pemurnian dengan menggunakan medium selektif Luria Bertani (LB) Dapar Asetat 0,25M pH 6,8 dan didapatkan 5 isolat yang mengandung bakteri *Bacillus thuringiensis*.

Tabel 2. Hasil Pemurnian Isolat *Bacillus thuringiensis*

No.	Kode Bakteri <i>Bacillus thuringiensis</i>	Biakan Bakteri <i>Bacillus thuringiensis</i>
1.	B ₅ 6	Isolat Bakteri ke-1
2.	B ₆ 9	Isolat Bakteri ke-2
3.	C ₄ 10	Isolat Bakteri ke-3
4.	No.4	Isolat Bakteri ke-4
5.	No.2	Isolat Bakteri ke-5

4. Uji Aktifitas Biokimia

Tabel 3. Hasil Uji Aktifitas Biokimia

No.	Uji Biokimia	Isolat B ₆ 9	Isolat No. 2	<i>Bacillus thuringiensis</i>
1.	Motilitas	+	+	+
2.	Pencairan Gelatin	+	+	+
3.	Urea	-	-	+/-
4.	Sitrat	-	+	-
5.	Glukosa	+	+	+
6.	Arabinosa	-	+	-
7.	Manitol	-	-	-
8.	Pengaruh pH			
	3	+	-	-
	7	+++	++	+++
	10	+	-	-
9.	Pengaruh suhu			
	4°C	-	-	-
	25°C	++	+++	+++
	37°C	++	++	-

Keterangan (untuk pengaruh pH dan suhu):

+ : agak keruh

++ : keruh

+++ : sangat keruh

5. Fermentasi Isolat Bakteri *Bacillus thuringiensis*

Isolat yang telah dimurnikan kemudian difermentasikan ke dalam medium T3 cair pH 6,8 sebanyak 100 ml selama 3-4 hari sambil dikocok dengan kecepatan 150 rpm menggunakan *shaker*.

6. Uji Daya Bunuh

Hasil fermentasi yang diperoleh kemudian dipisahkan antara filtrat dan endapannya dengan cara disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Endapan inilah yang digunakan dalam uji daya bunuh. Dilakukan uji daya bunuh terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar ketiga dengan melakukan 3 kali replikasi

Tabel 4. Daya Bunuh *Bacillus thuringiensis* selama 24 jam

Replikasi	Jumlah Kematian Larva					Kontrol
	5%	10%	15%	20%	25%	
1	1	1	2	4	6	0
2	0	1	1	3	5	0
3	1	2	3	6	7	0
Total Kematian	2	4	6	13	18	0
Rerata	0,6	1,3	2	4,3	6	0
% Kematian	6,67	13,3	20	43,3	60	0
Nilai Probit	3,45	3,87	4,16	4,82	4,82	0

Dari data pada Tabel 4. dapat dilihat bahwa tingkat daya bunuh *Bacillus thuringiensis* paling tinggi adalah pada 25% dengan rata-rata kematian larva adalah 60%.

Untuk mengetahui keefektifan toksik isolat *Bacillus thuringiensis* dilakukan perhitungan *Lethal Concentration 50* (LC₅₀) dengan metode Probit Analisa. Dari analisis data tersebut diperoleh persentase kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* adalah 24,62%.

B. Pembahasan

Pada penelitian ini, telah dilakukan pengambilan sampel tanah kebun dari kota Makassar di wilayah Antang dan diisolasi sehingga mendapatkan biakan bakteri *Bacillus thuringiensis*. Tanah perkebunan merupakan lahan yang banyak mengandung zat hara serta mineral yang dibutuhkan bakteri dalam pertumbuhannya selain itu menurut penelitian Martin dan Travers (1989), sebanyak 55,6-93,5% tanah mengandung bakteri *Bacillus thuringiensis*. Juga, Chilcott dan Wigley melaporkan bahwa bakteri *Bacillus thuringiensis* ditemukan 60-100% dari berbagai sampel tanah di Selandia Baru. Pengambilan sampel tanah di berbagai kebun di Kota Makassar bertujuan untuk mengisolasi bakteri *Bacillus thuringiensis* dengan harapan akan diperoleh isolat lokal yang mampu digunakan sebagai bioinsektisida.

Isolasi bakteri *Bacillus thuringiensis* dari tanah kebun di wilayah Antang kota Makassar dengan menggunakan metode Ohba dan Aizawa (1986), 1 gram dari setiap sampel disuspensikan ke dalam 10 ml air steril dan dipanaskan pada suhu 80°C selama 30 menit dengan tujuan agar bakteri yang tidak mampu membentuk spora dapat mati, lalu dibuat pengenceran sampel dari 10⁻¹ sampai 10⁻⁶ dengan menggunakan media Nutrient Agar (NA) sebagai media pertumbuhan dan diinkubasi

selama 1x24 jam. Setelah diinkubasi diperoleh 19 isolat yang memiliki ciri-ciri seperti *Bacillus thuringiensis*, yaitu bulat, tidak ada lendir, kurang atau tidak mengkilap, permukaan agak kasar dan berwarna putih suram atau putih kekuningan. Selanjutnya dilakukan pengecatan Gram dan pengecatan Spora.

Pengecatan Gram pada isolat bakteri dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri yang diperoleh agar dapat diklasifikasikan sebagai Gram positif atau Gram negatif. Isolat B₅₆, B₆₉, C₄₁₀, No.2, No.4, dan No.7 menunjukkan warna biru saat pengecatan Gram, sehingga dapat disimpulkan bahwa isolat-isolat tersebut merupakan Gram positif.

Penyebab bakteri Gram positif berwarna biru disebabkan kompleks zat warna Kristal violet-yodium tetap dipertahankan meskipun diberi larutan pemucat seperti alkohol, sedangkan bakteri Gram negatif berwarna merah karena kompleks tersebut larut sewaktu pemberian larutan pemucat dan kemudian mengambil zat warna kedua yang berwarna merah. Hal ini disebabkan perbedaan struktur dinding sel dari bakteri Gram negatif dan Gram positif, sehingga menyebabkan perbedaan reaksi dalam permeabilitas zat warna dan penambahan larutan pemucat. Sebagian besar dinding sel bakteri Gram positif terdiri dari peptidoglikan, sedangkan dinding sel bakteri Gram negatif mempunyai kandungan lipid yang tinggi dibandingkan dinding sel bakteri Gram positif. Lipid ini akan larut dalam alkohol dan aseton yang digunakan sebagai larutan pemucat, sehingga pori-pori dinding sel membesar dan meningkatkan daya larut kompleks Kristal violet-yodium pada dinding sel bakteri Gram negatif. Pada Gram positif akan terbentuk persenyawaan kompleks Kristal violet-yodium ribonukleat yang tidak larut dalam larutan pemucat (Lay, 1994: 18-19).

Pengecatan spora bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri yang mampu menghasilkan spora. Spora pada bakteri merupakan struktur yang tahan panas dan bahan kimia. Spora dibentuk oleh bakteri tertentu untuk mengatasi lingkungan yang tidak menguntungkan bagi bakteri. Spora terbentuk dalam sel sehingga seringkali disebut sebagai endospora; dalam sel bakteri hanya terdapat 1 spora. Lapisan luar spora merupakan penahan yang baik terhadap bahan kimia, sehingga spora sukar diwarnai. Spora bakteri dapat diwarnai dengan dipanaskan. Pemanasan menyebabkan lapisan luar spora mengembang, sehingga zat warna dapat masuk (Lay, 1994: 24-25).

Koloni yang terpilih kemudian diisolasi lebih lanjut untuk mendapatkan isolat *Bacillus thuringiensis* dengan media selektif, yaitu media Luria Bertani (LB) Dapar Asetat 0,25M pH 6,8. Hal ini dikarenakan spora *Bacillus thuringiensis* tidak mampu bergerminasi dalam media yang mengandung natrium asetat dengan konsentrasi yang tinggi (0,25M), sedangkan spora *Bacillus* sp. non *Bacillus thuringiensis* tetap dapat bergerminasi. Hasil penanaman di media Luria Bertani dapar asetat dikonfirmasi dengan penanaman kembali koloni ke dalam media Luria Bertani padat pH 7,2 yang sebelumnya dipanaskan pada suhu 80°C selama 5 menit agar bakteri yang mengalami germinasi mati dan tidak dapat tumbuh lagi di media Luria Bertani padat. Setelah isolat diperoleh, kemudian dilakukan uji Biokimia untuk memastikan isolat yang ditemukan adalah isolat *Bacillus thuringiensis*.

Pada uji motilitas menunjukkan hasil yang positif karena isolat bakteri B₆₉ yang ditusukkan pada medium SIM menyebar di dalam tusukan, hal ini menunjukkan bahwa isolat tersebut bersifat motil (bergerak).

Pada uji pencairan gelatin, isolat bakteri B₆₉ memberikan hasil yang positif. Isolat bakteri yang telah diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C, kemudian

didiamkan di lemari es selama 30 menit dan medium tetap cair. Gelatin adalah protein yang bila didinginkan membentuk gel. Beberapa mikroorganisme tertentu mampu menghidrolisis gelatin. Gelatin yang telah dicerna tidak mampu membentuk gel dan bersifat cair.

Pada uji sitrat dengan menggunakan media SCA, isolat bakteri B₆₉ menunjukkan hasil negatif karena tidak terjadi perubahan warna dari biru ke hijau. Uji ini digunakan untuk melihat kemampuan mikroorganisme menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi. Bila mikroorganisme mampu menggunakan sitrat, maka asam akan dihilangkan dari medium biakan, sehingga menyebabkan peningkatan pH dan mengubah warna medium.

Pada uji hidrolisis urea menunjukkan hasil negatif, isolat bakteri B₆₉ tidak mampu menghidrolisis urea. Bila terdapat enzim urease, akan mengubah warna medium menjadi warna merah kekuningan.

Pada uji glukosa menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan adanya perubahan warna dari merah menjadi kuning, hal ini menunjukkan bahwa isolat bakteri B₆₉ mampu memfermentasikan glukosa artinya bakteri mampu membentuk asam dari fermentasi glukosa. Pada media glukosa juga terbentuk gelembung pada tabung durham yang berarti hasil fermentasi bakteri berbentuk gas.

Pada uji arabinosa menunjukkan hasil negatif yang ditandai dengan tidak terjadi perubahan warna dari biru menjadi hijau, hal ini menunjukkan bahwa isolat bakteri B₆₉ tidak mampu memfermentasikan arabinosa artinya bakteri tidak mampu membentuk asam dari fermentasi arabinosa. Pada media arabinosa juga tidak terbentuk gelembung pada tabung durham.

Pada uji manitol menunjukkan hasil negatif yang ditandai dengan tidak terjadi perubahan warna dari biru menjadi hijau, hal ini menunjukkan bahwa isolat bakteri B₆₉ tidak mampu memfermentasikan manitol artinya bakteri tidak mampu membentuk asam dari fermentasi manitol. Pada media manitol juga tidak terbentuk gelembung pada tabung durham.

Pada uji pertumbuhan pH, isolat tumbuh dengan baik pada pH 7, sedangkan pada pH 3 dan pH 10 mengalami sedikit pertumbuhan. Hal ini terjadi karena kerja enzim yang mengkatalisis berbagai reaksi metabolisme sel dipengaruhi oleh tingkat pH. Menurut Pelczar (1986), daya kerja enzim sangat dipengaruhi oleh pH. Jika pH di atas atau di bawah pH optimum maka kerja enzim akan terhambat. Terhambatnya kerja enzim menyebabkan terhambatnya metabolisme sel sehingga sel terhambat untuk tumbuh dan berkembang.

Pada uji pertumbuhan suhu, isolat pada suhu 37°C dan 25°C mengalami kekeruhan pada tabung yang menandakan terjadinya pertumbuhan, sedangkan pada suhu 4°C tidak mengalami pertumbuhan.

Untuk menyeleksi isolat potensial di antara semua isolat yang diperoleh maka dilakukan *screening* berdasarkan uji daya bunuh isolat terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*. *Screening* meliputi penyediaan kultur isolat dari sampel yang diambil dari wilayah Kota Makassar, larva nyamuk *Aedes aegypti* instar 3, uji daya bunuh dan seleksi isolat potensial berdasarkan nilai daya bunuh.

Setelah diperoleh isolat yang potensial maka selanjutnya dilakukan fermentasi isolat bakteri *Bacillus thuringiensis* ke dalam medium produksi T3 selama 3-4 hari sambil di *shaking* dengan kecepatan 150 rpm agar selama fermentasi bakteri akan mencapai fase stationer dan menghasilkan senyawa metabolit sekunder, hal ini

dikarenakan metabolit sekunder tidak diproduksi pada saat pertumbuhan sel secara cepat (fase logaritmik), tetapi biasanya disintesis pada akhir siklus pertumbuhan sel, yaitu pada fase stationer saat populasi sel tetap. Senyawa metabolit sekunder inilah yang diantaranya adalah toksin yang digunakan sebagai bioinsektisida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*.

Waktu yang dialami selama fase stationer tersebut memberikan gambaran bahwa bakteri *Bacillus thuringiensis* menghasilkan toksin dari proses metabolisme melalui fermentasi tersebut. Toksin bakteri *Bacillus thuringiensis* merupakan protein yang berada dalam sel bakteri yang berbentuk kristal di dalam kotak spora.

Hasil fermentasi pada fase stationer ini dipisahkan antara filtrat dan endapannya dengan disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Endapan yang diperoleh disuspensikan ke dalam 1 ml air suling steril. Suspensi bakteri inilah yang digunakan sebagai bioinsektisida yang dibuat dalam berbagai konsentrasi, yaitu konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25% dan kontrol dengan air suling steril, kemudian dicampurkan ke dalam air yang berisi larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III. Konsentrasi yang digunakan diperoleh dari uji pendahuluan yang telah dilakukan sebelumnya, yaitu dengan mengambil konsentrasi terendah hingga konsentrasi yang mampu menyebabkan larva mati. Konsentrasi yang digunakan untuk uji pendahuluan yaitu konsentrasi 1-5%.

Setelah pemberian toksin bioinsektisida bakteri *Bacillus thuringiensis* dengan konsentrasi yang bervariasi dan satu kelompok sebagai kontrol, diperoleh bahwa konsentrasi 5% memberikan rata-rata persentasi kematian 6,67%; konsentrasi 10% memberikan rata-rata persentasi kematian 13,3%; konsentrasi 15% memberikan rata-rata persentasi kematian 20%; konsentrasi 20% memberikan rata-rata persentasi

kematian 43,4%; konsentrasi 25% memberikan rata-rata persentasi kematian 60%; dan kontrol memberikan rata-rata persentasi kematian 0%.

Isolat bakteri B₆₉ dinyatakan mempunyai potensi toksisitas akut jika mempunyai harga LC₅₀ kurang dari 25%. *Lethal Concentration* 50 (LC₅₀) merupakan konsentrasi zat yang menyebabkan terjadinya kematian pada 50% hewan percobaan yaitu larva nyamuk *Aedes aegypti*. Pengujian terhadap isolat bakteri B₆₉ *Bacillus thuringiensis* menunjukkan harga LC₅₀ sebesar 24,62%, sehingga dapat dikatakan isolat bakteri B₆₉ *Bacillus thuringiensis* yang diisolasi dari tanah Kota Makassar pada penelitian ini berpotensi sebagai bioinsektisida dengan hewan coba larva nyamuk *Aedes aegypti*.

Pemberian toksin bioinsektisida dengan cara mencampurkan ke dalam air yang berisi larva uji dengan konsentrasi 5-25% memperlihatkan gejala-gejala toksis setelah dibiarkan selama 1x24 jam. Gejala tersebut berupa respon fisik dan tingkah laku. Beberapa saat setelah pemberian toksin, larva mengalami gerakan menggulung badannya dan melakukan gerakan teleskopik, yaitu gerakan turun naik dari permukaan. Setelah itu mengalami kekejangan (konvulsi) dan dilanjutkan dengan kelumpuhan (paralisis) dan akhirnya terjadi kematian. Efek gerakan teleskopik dan konvulsi pada konsentrasi 5-15% lebih lambat akibat konsentrasi yang lebih rendah, sehingga kematian yang terjadi juga rendah. Kematian pada larva disebabkan karena aktivitas kristal protein yang dihasilkan oleh bakteri *Bacillus thuringiensis* yang dapat merusak usus tengah (midgut) dari larva. Hal ini disebabkan oleh larva nyamuk yang mempunyai saluran pencernaan yang bersifat alkali (basa) sekitar antara 10-12 dan menghasilkan mineral serta enzim protease yang dapat menguraikan kristal protein, yang bersifat protoksin menjadi toksin. Beberapa menit setelah masuk ke dalam

saluran pencernaan larva nyamuk, toksin melewati membran tropik dan kemudian terikat pada reseptor khusus yang terdapat pada mikrovili sel epitel mesenteron. Setelah berikatan, toksin akan membentuk pori-pori kecil berukuran 0,5-1,0 nm. Akibatnya, keseimbangan osmotik dari sel menjadi terganggu, sehingga ion-ion dan air mudah masuk ke dalam sel dan menyebabkan sel mengembang kemudian pecah dan akhirnya menyebabkan lisis atau hancur. Sel-sel epitel yang telah hancur tersebut akan terpisah dari membran dasar dan terlepas ke dalam lumen. Sebagai akibat adanya kerusakan dan kehancuran dari sel-sel epitel menyebabkan membran dasar mudah dirusak oleh *Bacillus thuringiensis*. Toksin juga menghambat pembentukan ATP, merusak transportasi ion dan glukosa dan menghambat gerakan kontraksi otot-otot mesenteron. Akibat dari terjadinya kerusakan pada struktur dan fungsi usus, zat-zat metabolik seperti ion akan keluar dari lumen dan masuk ke dalam hemolimfa yang menimbulkan paralisis dan akhirnya larva mati. Kematian akan terjadi satu jam hingga 4 sampai 5 hari setelah intoksikasi, tergantung pada konsentrasi bakteri, ukuran dan jenis larva serta varietas bakteri yang digunakan.

Berdasarkan hasil pengamatan menunjukkan bahwa setelah larva mati, larva tersebut berwarna lebih muda daripada larva yang sehat, karena pada bagian yang lisis tampak lebih transparan. Ukuran tubuh larva semakin lama semakin mengkerut dengan kepala yang masih utuh tapi ada juga larva yang kepalanya tidak lagi utuh atau terpisah dari tubuh larva. Larva yang tidak mati atau yang mampu bertahan hidup dari serangan toksin yang dihasilkan *Bacillus thuringiensis* dapat berhasil menjadi pupa dan imago tetapi imago yang terbentuk tersebut biasanya berukuran kecil, cacat, lama hidupnya lebih pendek dan kemampuan meletakkan telurnya berkurang atau mandul.

Sedikitnya jumlah sampel tanah yang ditemukan mengandung *Bacillus thuringiensis*, karena kemungkinan ketidaksesuaian dengan distribusi *Bacillus thuringiensis* di dalam lokasi sampling. Menurut Meadows (1993) terdapat 4 kemungkinan keberadaan *Bacillus thuringiensis* di dalam tanah, yaitu (1) *Bacillus thuringiensis* jarang tumbuh di dalam tanah tetapi berada dalam bangkai serangga, daun, dan larva; (2) *Bacillus thuringiensis* menginfeksi serangga tanah tetapi tidak bersifat patogen, sedangkan di dalam tanah populasinya sedikit; (3) dapat tumbuh di dalam tanah ketika nutrient tersedia; dan (4) *Bacillus thuringiensis* tidak membentuk Kristal protein sehingga diduga sebagai *Bacillus cereus*. Waktu dan cara pengambilan sampel tanah yang tidak tepat menyebabkan hasil isolat yang diperoleh tidak sesuai dengan distribusi dan populasi *Bacillus thuringiensis* dalam tanah yang sebenarnya.

Beberapa faktor lingkungan yang mempengaruhi persistensi *Bacillus thuringiensis* yaitu meliputi suhu optimum untuk infeksi, pertumbuhan dan perkembangan kebanyakan entomopatogen berkisar antara 10 – 30°C. Jika suhu lingkungan kurang dari 10°C atau lebih besar dari 30°C, sel *Bacillus thuringiensis* akan menjadi nonaktif. Temperatur 35°C umumnya akan menghambat pertumbuhan dan perkembangan *Bacillus thuringiensis*. Aktivitas bioinsektisida *Bacillus thuringiensis* akan menurun pada suhu 50°C. Kelembapan spora *Bacillus thuringiensis* akan bertahan lebih lama dalam keadaan kering. Perkiraan hilangnya stabilitas spora *Bacillus thuringiensis* dapat mencapai 18% jika spora disimpan dalam keadaan lembab pada suhu 30°C. Spora *Bacillus thuringiensis* yang disimpan dalam keadaan kering akan cenderung lebih stabil (Jati dkk., 2013: 32-33). Sinar matahari mampu menonaktifkan sel *Bacillus thuringiensis*. Sinar matahari dengan spektrum antara 290-400 nm mampu menyebabkan kerusakan genetik pada sel *Bacillus*

thuringiensis (Jati dkk., 2013: 32-33). Di laboratorium, spora bakteri yang diperlakukan dengan sinar ultraviolet selama 1 menit akan berkurang viabilitasnya sekitar 12%, dan apabila dilakukan penyinaran yang lebih lama yaitu 10 menit pengaruhnya berkurang 50% dan penyinaran 60 menit pengaruhnya berkurang 80% (Jati dkk., 2013: 32-33).

Lokasi didapatkan *Bacillus thuringiensis* isolat B₆9 yaitu di daerah lahan kebun-kebun di kota Makassar yang memiliki tanah lembab dan daerah yang cukup mendapatkan cahaya matahari.

Selain faktor lingkungan, yang mempengaruhi keefektifan dari daya bunuh dari bakteri *Bacillus thuringiensis* adalah adanya kesesuaian vektor target dengan bakteri uji.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Ditemukan isolat B₆₉ yang daya bunuh terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* paling tinggi, sebesar 60% pada konsentrasi 25% dalam waktu 24 jam.
2. Efek toksisitas ditunjukkan dengan nilai LC₅₀ yaitu 24,62%.

B. Implikasi Penelitian

Disarankan untuk melakukan penelitian identifikasi lebih lanjut terhadap varietas bakteri *Bacillus thuringiensis* pada tanah asal kota Makassar agar diketahui spesifik target sasaran sebagai bioinsektisida. Selain itu dilakukan juga uji isolat terhadap serangga ordo lain seperti ordo lepidoptera dan coleoptera.



DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Danial Zainal. *Quran Saintifik: Meneroka Kecemerlangan Quran daripada Teropong Sains*. Kuala Lumpur: PTS Millennia SDN. BHD, 2007.
- Afidah, Ulfatul. "Efektifitas Serbuk Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap Kematian Larva *Aedes aegypti*." *Skripsi*. Semarang: Universitas Muhammadiyah Semarang, 2011.
- Al-Bukhary, Al-Imam. *Shahih Bukhary*, jilid I, II, III, dan IV. Bandar Baru Sri petaling, Kuala Lumpur: Klang Book Centre, 2009.
- Al-Hilal, Syaikh Salim bin 'Ied. *Syarah Riyadhush Shalihin*, jilid I, terj. Bamuallim, Geis Abad. Jakarta: Pustaka Imam Asy-Syafi'I, 2005.
- Al-Hilali, Syaikh Salim bin 'Ied. *Ensiklopedia Larangan menurut Al-Qur'an dan As-Sunnah*, terj. Abu Ihsan Al-Atsari. Bogor: Pustaka Imam Asy-Syafi'I, 2005
- Al-Momani, F dan M. Obeidat. "Abundance and Serotyping of pathogenic isolates of *Bacillus thuringiensis* isolated from Ajloun Forests," *Journal of Biodiversity and Ecological Sciences*, no. 2, issue 1. Tonekabon,Iran: Islamic Azad University of Tonekabon Branch, 2012.
- Al-Utsaimin, Syaikh Muhammad bin Shalih. *Panduan Wakaf, Hibah dan Wasiat*, terj. Abu Hudzaifah. Jakarta: Pustaka Imam Asy-Syafi'I, 2008.
- Ash-Shiddieqy, Teungku Muhammad Hasbi, *Tafsir Al-Qur'anul Majid An-Nuur*. Semarang: Pustaka Rizki Putra, 2000.
- Çinar, Çelenk. "Isolation and Characterization of *Bacillus thuringiensis* from Olive Treerelated Habitats." *Thesis*. Izmir: School of Engineering and Sciences of Izmir Institute of Technology, 2005.
- Departemen Agama RI. *Al-Qur'an dan Tafsirnya* (Edisi yang Disempurnakan), jilid VI. Jakarta: Lentera Abadi, 2010.
- , *Al-Qur'an dan Tafsirnya* (Edisi yang Disempurnakan), jilid IX. Jakarta: Lentera Abadi, 2010.
- Departemen Agama RI. *Al-Qur'an dan Terjemahnya, Mushaf Ar Rusydi*. Revisi terj. Lajnah Pentashih Mushaf Al-Qur'an. Depok: Management Cahaya Qur'an, 2008.
- Djakaria. "Vektor Penyakit Virus, Riketsia, Spiroketa dan Bakteri," dalam *Parasitologi Kedokteran* edisi ketiga, ed. Srisasi G, Herry DI, Wita P. Jakarata: Balai Penerbit FKUI, 2000.
- Djide, Natsir dan Sartini. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Farmasi*. Makassar: Lembaga Penerbitan Unhas, 2008.
- Djojosumarto, Panut. *Panduan Lengkap Pestisida dan Aplikasinya*. Jakarta Selatan: PT Agromedia Pustaka, 2008.

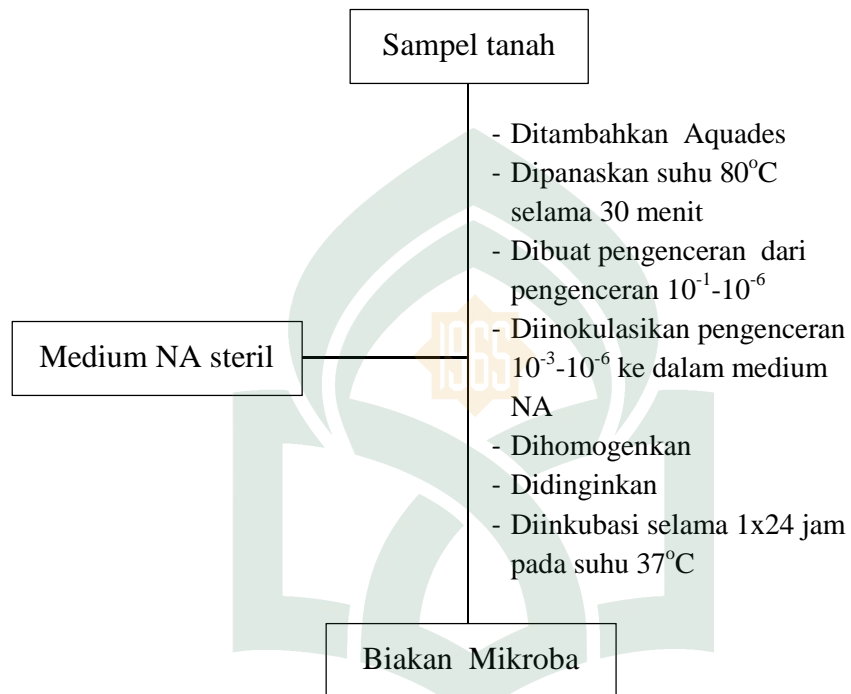
- Fidiana, Deni Febe, Mifbakhuddin, Ulfa Nurullita. "Daya Bunuh Ekstrak Kulit Duku (*Lansium Domesticum* Corr.) Terhadap Kematian Larva *Aedes Aegypti*". *Skripsi*. Semarang: Universitas Muhammadiyah Semarang, 2013.
- Gama, Zulfaidah Penata., Bagyo Yanuwiadi., Tri Handayani Kurniati. "Strategi Pemberantasan Nyamuk Aman Lingkungan: Potensi *Bacillus thuringiensis* Isolat Madura Sebagai Musuh Alami Nyamuk *Aedes aegypti*." *Jurnal Pembangunan dan Alami Lestari*, vol 1, no. 1, 2010.
- Ginanjari, Genis. *Demam Berdarah: A Survival Guide*. Yogyakarta: Mizan Group, 2007.
- Hafinu, Jeffij V. "Isolasi dan Uji Patogenisitas *Bacillus thuringiensis* terhadap *Crocidolomia binotalis* zell. (Lepidoptera: Pyralidae)." *Jurnal Budidaya Pertanian*, vol. 5, no. 2, 2009.
- Jati, Wibowo Nugroho, Indah Murwani dan Felicia Zahida. "Isolasi, Purifikasi dan Uji Patogenisitas Isolat *Bacillus thuringiensis* berliner Wilayah Daerah Istimewa Yogyakarta terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti* linn," *Laporan Akhir Hasil Penelitian Hibah Fundamental*. Yogyakarta: Fakultas Tehnobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta, 2013.
- Kandibane, M., Kumar, K. dan Adiroubane, D. "Effect of *Bacillus thuringiensis* Berliner formulation against the rice leaf folder *Cnaphalocrocis medinalis* Guenee (Pyralidae: Lepidoptera)." *Journal of Biopesticides*, 3(2), 2010.
- Lay, Bibiana W. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada, 1994.
- Mahmud, Mahir Hasan. *Terapi Air*. Jakarta: Qultum Media, 2007.
- Mardihusodo, S..J. "Mengembangkan dan Meningkatkan Peran Serta Masyarakat dalam Upaya Pemberantasan Vektor Dengue *Haemorrhagic Fever*." *Buletin Penelitian Kesehatan*, vol. 19 (1), 1987.
- Martin, P.A., Gundersen, D.E., Blackburn, M.B. "Distribution of phenotypes among *Bacillus thuringiensis* strains." *Systematic and Applied Microbiology*, vol. 33. 2010.
- Natadisastra, Djaenudin. *Parasitologi Kedokteran: Ditinjau dari Organ Tubuh yang Diserang*, ed. Djaenudin Natadisastra, Ridad Agoes. Jakarta: EGC, 2009.
- Nawawi, Imam. *Nuzhatul Muttaqin*. Terj. Farid Dhofir, Mubil Dhofir, dkk. *Syarah dan Terjemah: Riyadhush Shalihin* jilid 2. Al-Furqon. Jakarta Timur: 2011.
- Pelczar, Michael J. Jr., dan E.C.S. Chan. *Dasar-Dasar Mikrobiologi I*, terj. Ratna Sri Hadioetomo, Teja Imas, Sutarmi Tjitrosomo, Sri Lestari Angka. Jakarta: Universitas Indonesia Press, 1986.
- Quthb, Sayyid. *Tafsir Fi Zhilalil Qur'an* di bawah naungan Al-Qur'an, Jilid 11, terj. As'ad Yasin, dkk., Jakarta: Gema Insani, 2004.
- Salaki, Christian L. dan Langkah Sembiring. "Eksplorasi Bakteri *Bacillus thuringiensis* Dari Berbagai Habitat Alami yang Berpotensi Sebagai Agensi Pengendali Hayati Nyamuk *Aedes aegypti* Linnaeus." *Prosiding Biteknologi*.

- Seminar Nasional Biologi XX dan Kongres PBI XIV UIN Maliki*. Malang: UIN Maliki, 2009.
- Salim, Abd. Muin dan Achmad Abubakar. *Tafsir Ahkam I*. Makassar: Alauddin Press, 2009.
- Satari, Hindra I., dan Mila Meiliasari. *Demam Berdarah*. Jakarta: Puspa Swara, 2004.
- Sembiring, Terang Uli J. Dewi Susanna. *Entomologi Kesehatan: artropoda pengganggu kesehatan dan parasit yang dikandungnya*, buku I. Jakarta: Univeritas Indonesia Press, 2011.
- Shihab, M. Quraish. *Tafsir Al Mishbah: pesan, kesan dan keserasian Al-Qur'an*, vol. 2. Jakarta: Lentera Hati, 2002.
- , *Tafsir Al Mishbah: pesan, kesan dan keserasian Al-Qur'an*, vol. 7. Jakarta: Lentera Hati, 2002.
- Shishir, Asaduzzaman, Asma Akter, Md. Hasibul Hassan, Golam Kibria. Mohammad Ilias, Shakila Nargis Khan dan Md. Mozzamel Hoq. "Characterization of Locally Isolated *Bacillus thuringiensis* for the Development of Eco-friendly Biopesticides in Bangladesh." *JBiopest*, 2012.
- Soedarto. *Parasitologi Klinik*. Surabaya: Airlangga University Press, 2008.
- Soegijanto, Soengeng. *Demam Berdarah Dengue*, edisi 2. Surabaya: Airlangga University Press, 2006.
- WHO. *Demam Berdarah Dengue: Diagnosis, Pengobatan, Pencegahan dan Pengendalian*, edisi 2. ed. Yasmin Asih, terj. Monica Ester. Jakarta: EGC, 1999.

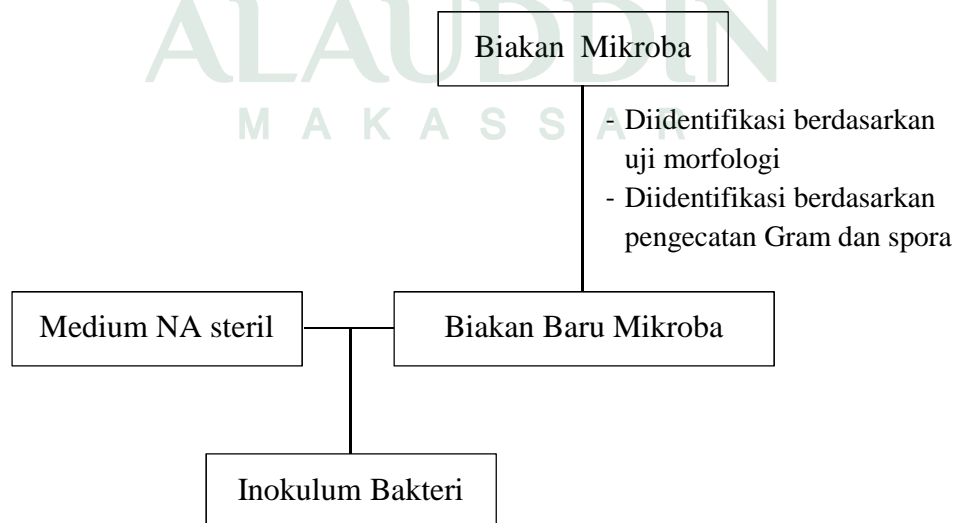
Lampiran 1. Skema Kerja

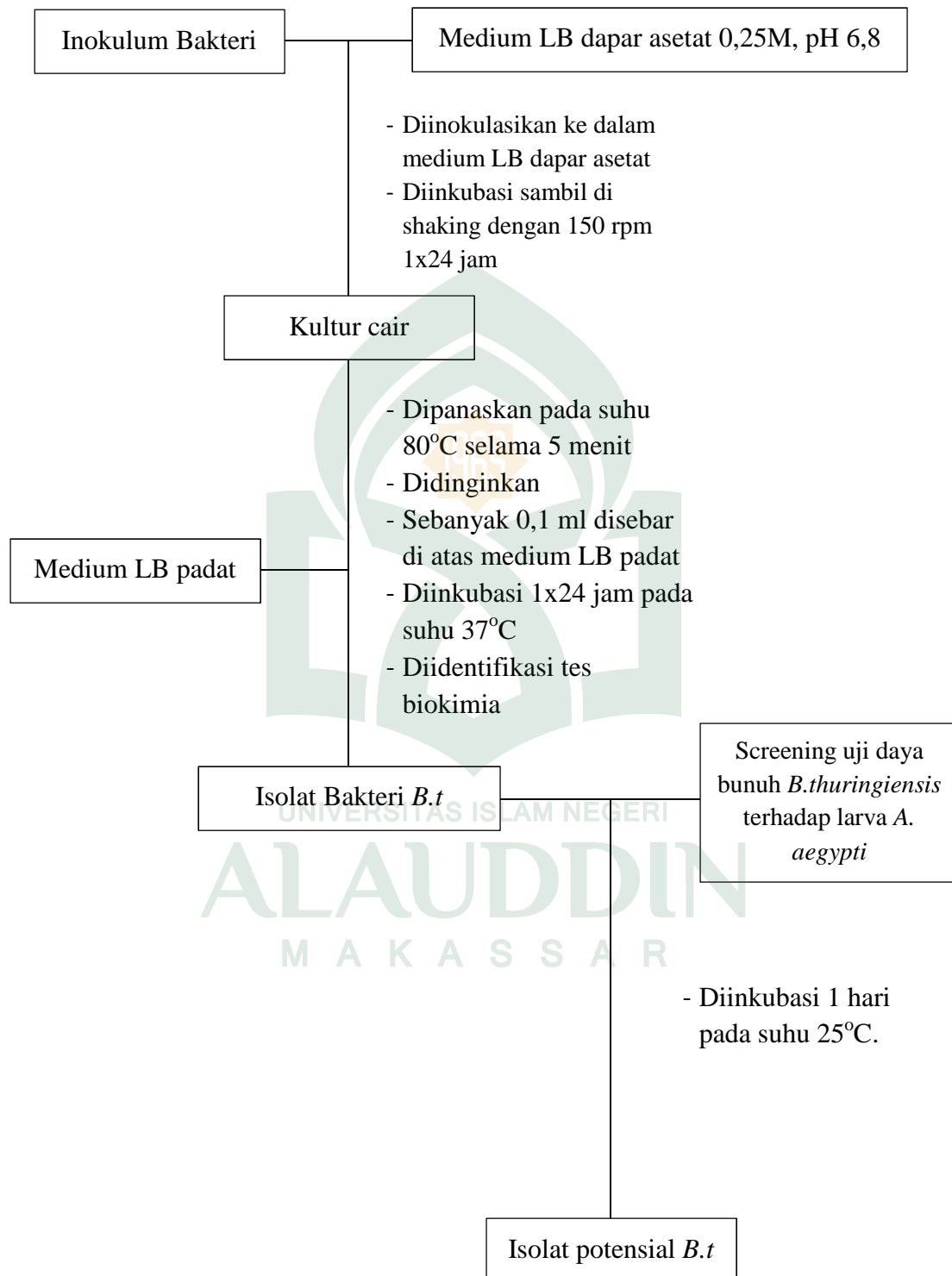
SKEMA KERJA

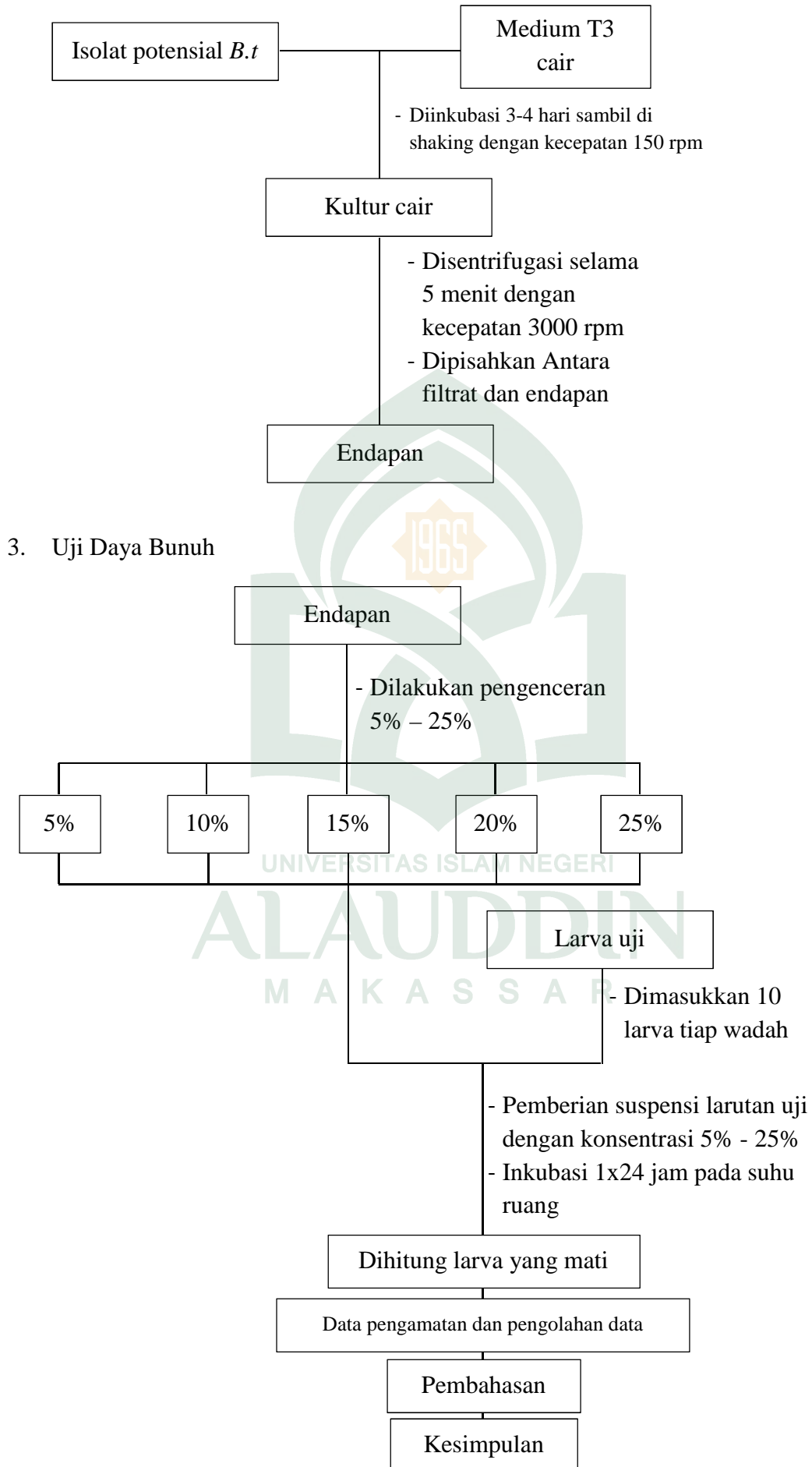
1. Isolasi Bakteri *Bacillus thuringiensis*



2. Karakterisasi Sel dan Koloni *B.t*



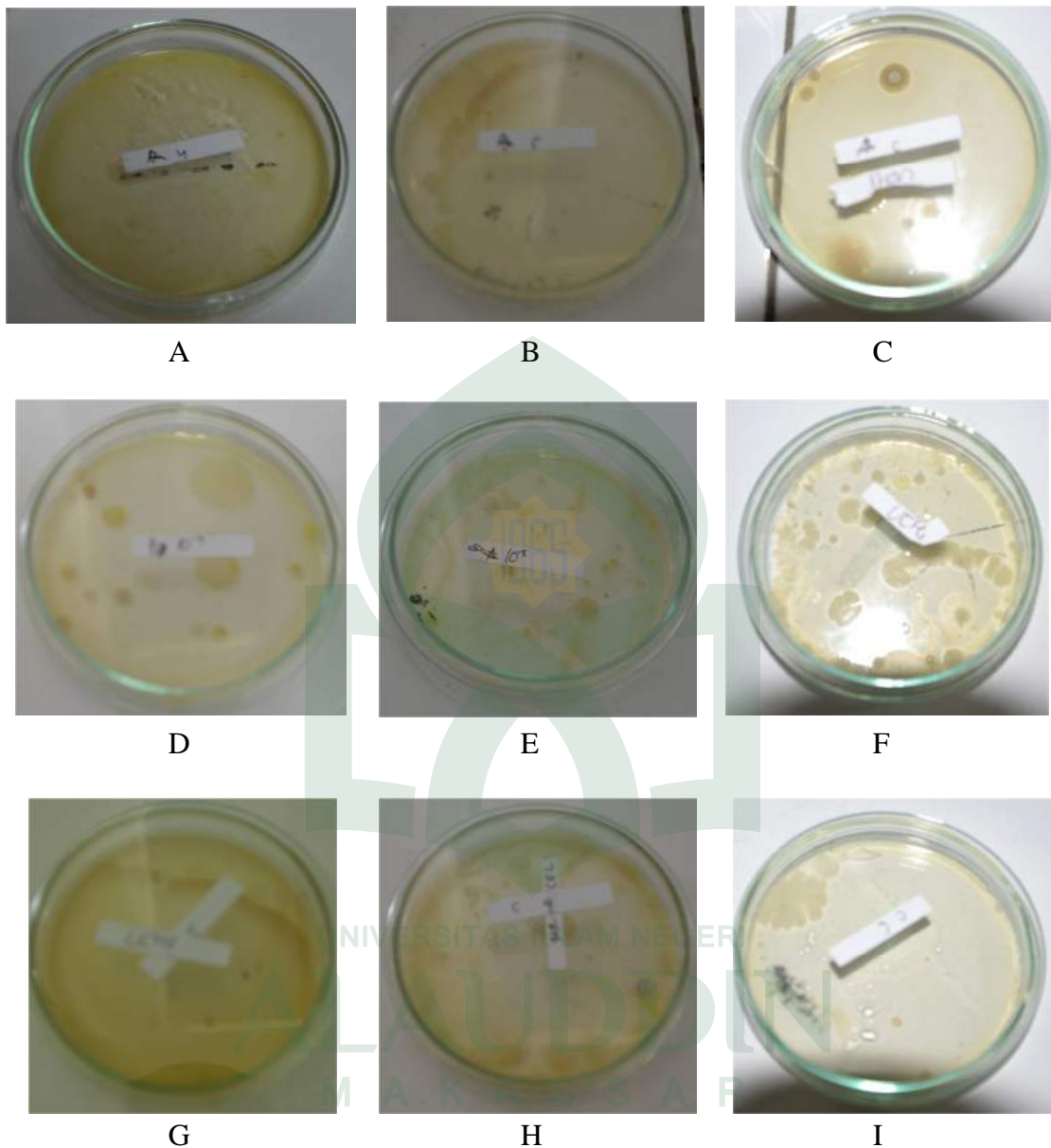




Lampiran 2. Hasil Pengamatan



Gambar 7. Suspensi sampel tanah



Gambar 8. Foto Hasil Isolat Bakteri dari Tanah pada Media Agar

Keterangan:

A = Sampel A pengenceran 10^{-4}

B = Sampel A pengenceran 10^{-5}

C = Sampel A pengenceran 10^{-6}

D = Sampel B pengenceran 10^{-4}

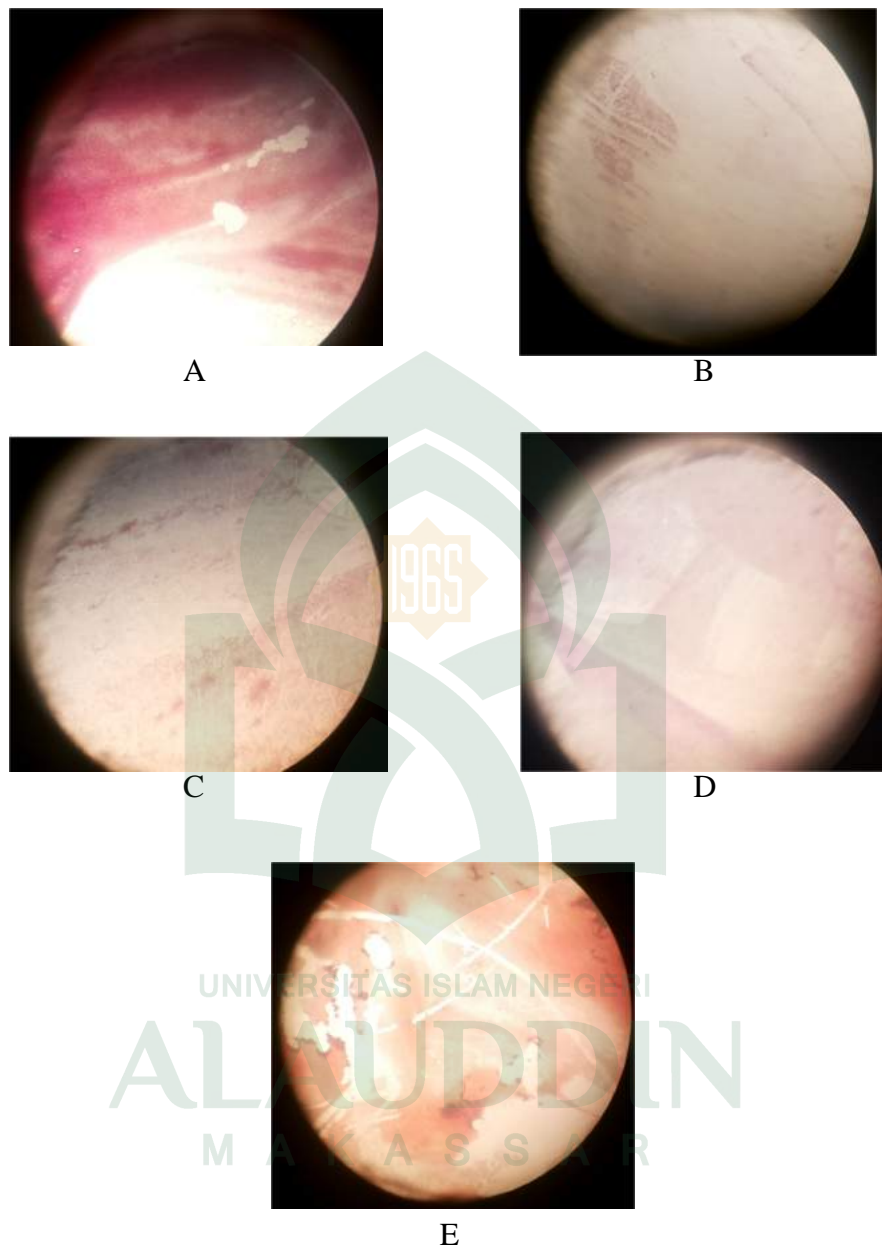
E = Sampel B pengenceran 10^{-5}

F = Sampel B pengenceran 10^{-6}

G = Sampel C pengenceran 10^{-4}

H = Sampel C pengenceran 10^{-5}

I = Sampel C pengenceran 10^{-6}



Gambar 9. Hasil pengecatan Gram

Keterangan:

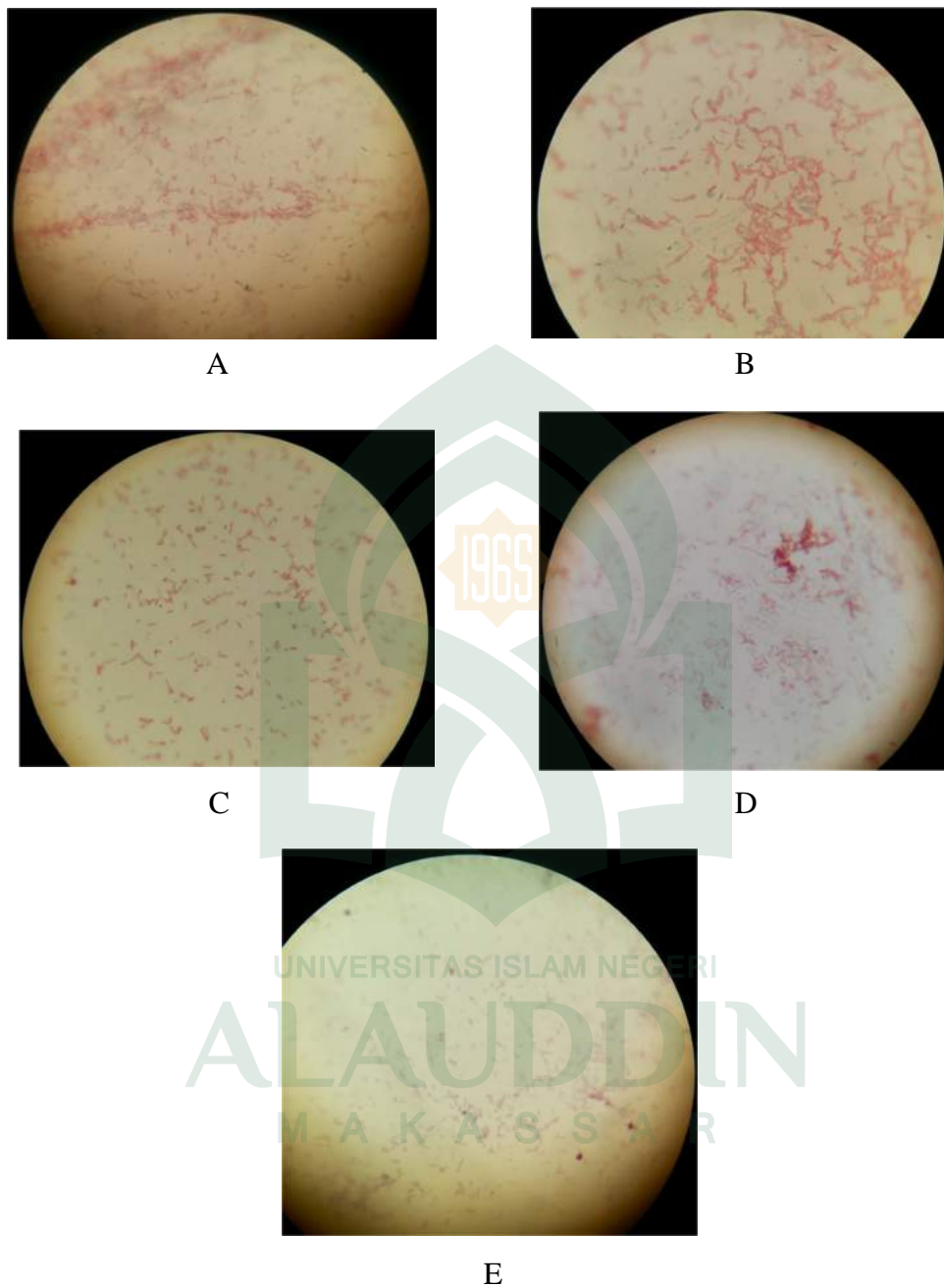
A = Isolat B₅₆

B = Isolat B₆₉

C = Isolat C₄₁₀

D = Isolat No.2

E = Isolat No.4



Gambar 10. Hasil pengecatan spora

Keterangan:

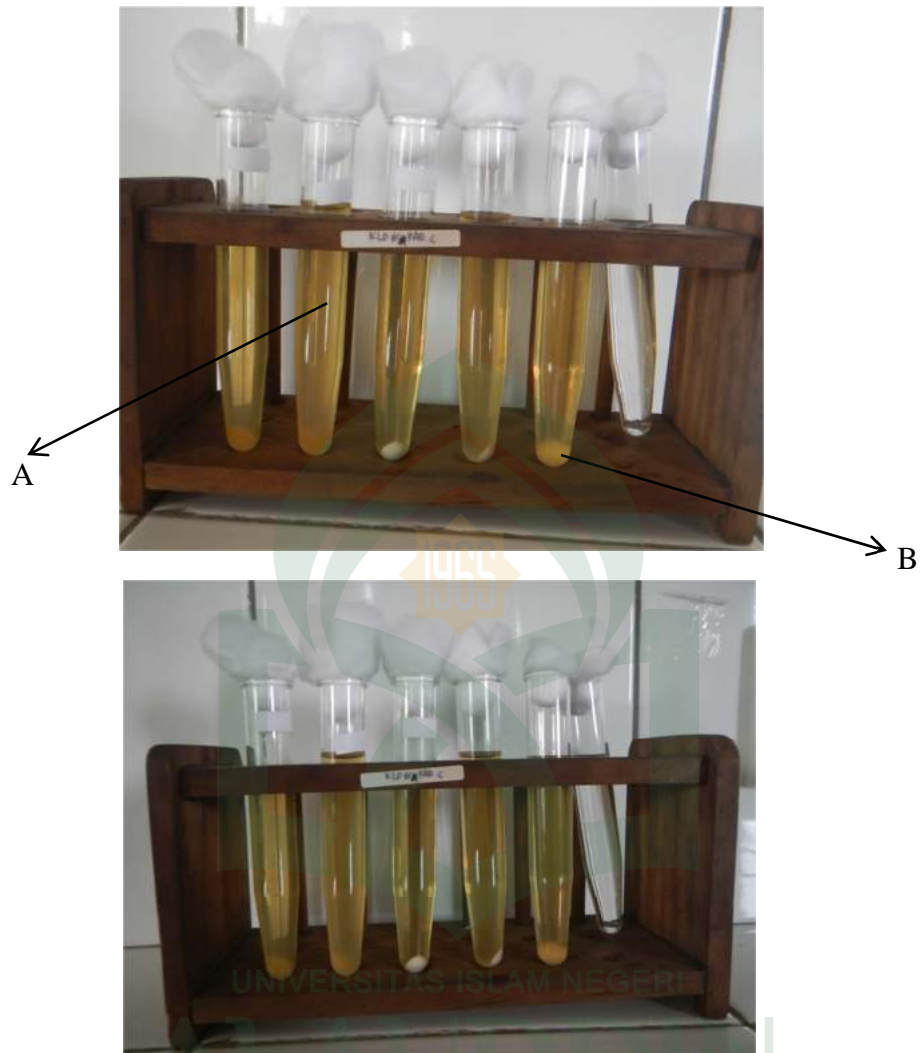
A = Isolat B₅6

B = Isolat B₆9

C = Isolat C₄10

D = Isolat No.2

E = Isolat No.4

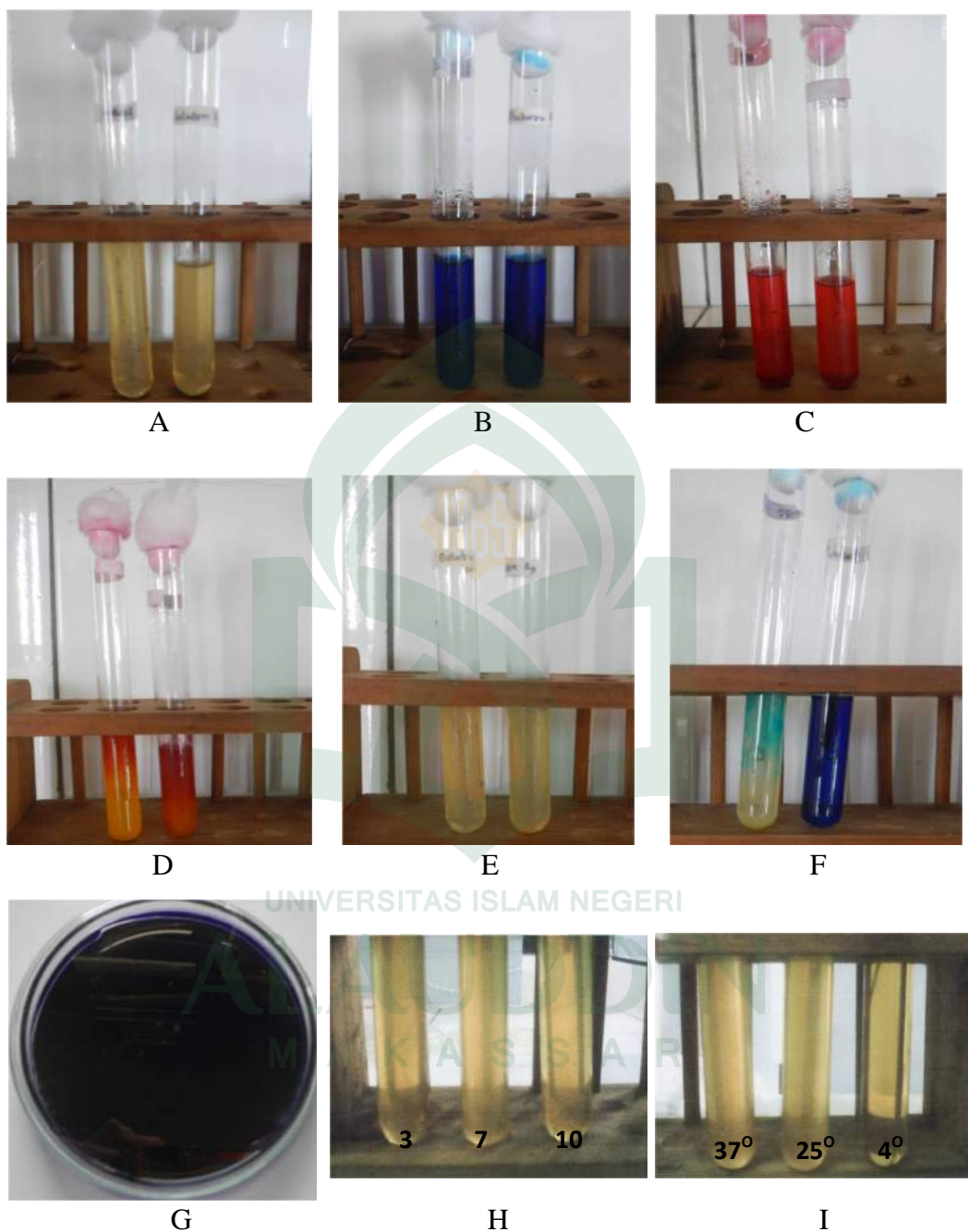


Gambar 11. Hasil fermentasi yang telah disentrifugasi

Keterangan:

A = Filtrat/Supernatan

B = Endapan

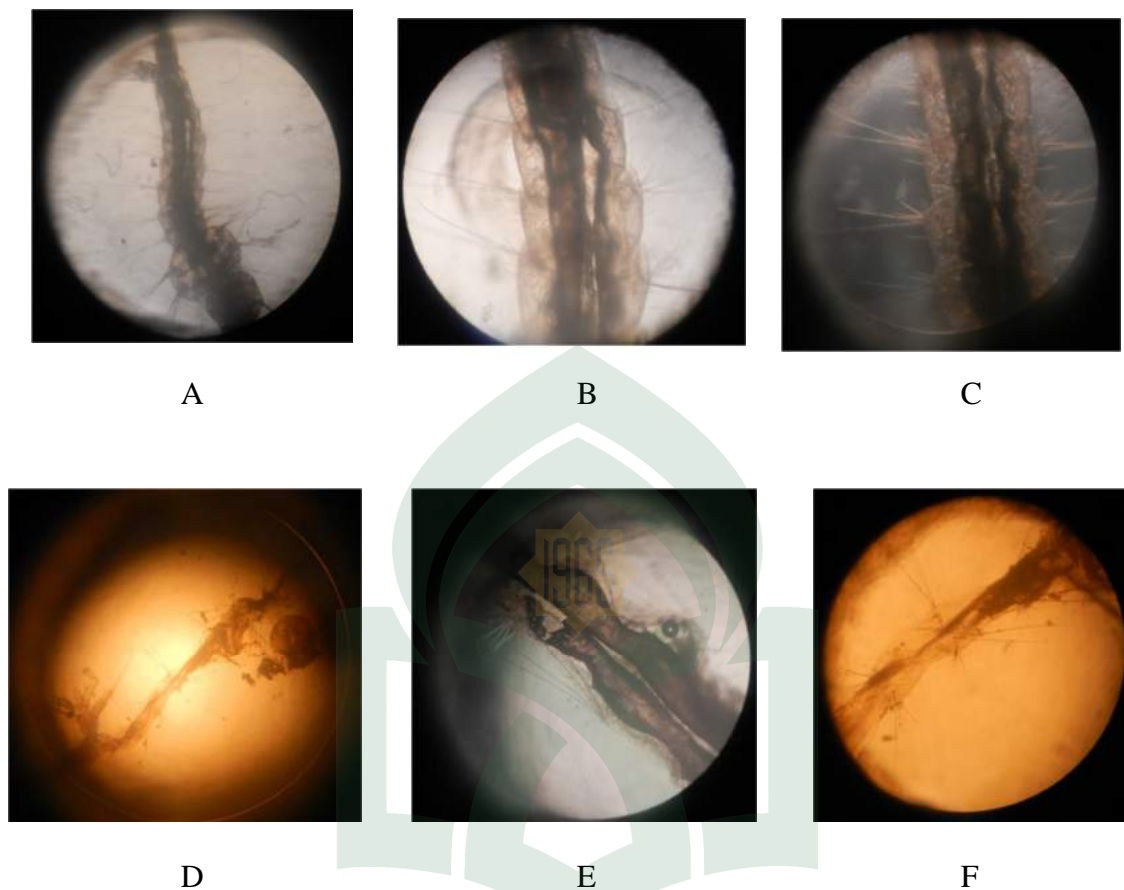


Gambar 12. Hasil uji aktivitas biokimia

Keterangan:

A = Hasil pengujian pada uji motilitas
 B = Hasil pengujian uji mannitol
 C = Hasil pengujian hidrolisis urea
 D = Hasil pengujian uji glukosa

E = Hasil pengujian pengenceran gelatin
 F = Hasil pengujian uji arabinosa
 G = Hasil pengujian uji sitrat
 H = Hasil Pengujian berbagai pH
 I = Hasil pengujian berbagai suhu



Gambar 13. Gambar keadaan larva *Aedes aegypti* sebelum dan sesudah perlakuan

Keterangan:

A, B, C = Keadaan Larva *Aedes aegypti* yang sehat

D, E, F = Keadaan Larva *Aedes aegypti* yang telah terinfeksi setelah perlakuan 1x24 jam

A = Perbesaran 5x

B dan C = Perbesaran 10x

E = Perbesaran 10x

D dan F = Perbesaran 5x

Lampiran 3. Perhitungan

Tabel 4. Daya Bunuh *Bacillus thuringiensis* selama 24 jam

Replikasi	Jumlah Kematian Larva					Kontrol
	5%	10%	15%	20%	25%	
1	1	1	2	4	6	0
2	0	1	1	3	5	0
3	1	2	3	6	7	0
Total Kematian	2	4	6	13	18	0
Rerata	0,6	1,3	2	4,3	6	0
% Kematian	6,67	13,3	20	43,3	60	0
Nilai Probit	3,45	3,87	4,16	4,82	4,82	0

Perhitungan % Kematian Larva nyamuk *Aedes aegypti*

$$\% = \frac{\text{Total Kematian}}{\text{Jumlah keseluruhan larva}}$$

$$\text{Konsentrasi 5\%} = \frac{2}{30} \times 100\% = 6,67\%$$

$$\text{Konsentrasi 10\%} = \frac{4}{30} \times 100\% = 13,3\%$$

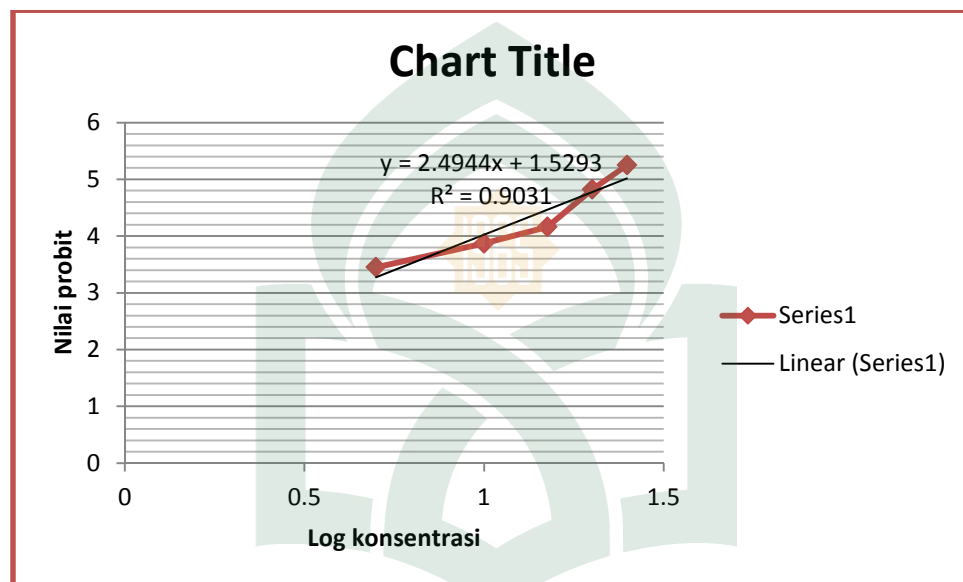
$$\text{Konsentrasi 15\%} = \frac{6}{30} \times 100\% = 20\%$$

$$\text{Konsentrasi 20\%} = \frac{13}{30} \times 100\% = 43,3\%$$

$$\text{Konsentrasi 25\%} = \frac{18}{30} \times 100\% = 60\%$$

Tabel 5. Log konsentrasi dan nilai probit dari % kematian larva

Konsentrasi (%)	Log konsentrasi	% Kematian	Nilai Probit
5	0,6989	6,67	3,45
10	1	13,3	3,87
15	1,1760	20	4,16
20	1,3010	43,3	4,82
25	1,3979	60	5,25



$$\begin{aligned}
 y &= a + bx \\
 y_2 &= 2,4944x + 1,5293 \\
 R^2 &= 0,9031 \\
 LC_{50} &= y \\
 &= 2,4944x + 1,5293
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 5 &= 2,4944x + 1,5293 \\
 x &= 1,3913 \\
 \text{Antilog } 1,3913 &= 24,62 \% \\
 LC_{50} &= 24,62 \%
 \end{aligned}$$

Lampiran 4. Pembuatan Media

1. Nutrient Agar

Komposisi: (20 g/ 1 L)

Ekstrak beef	3,0 g
Pepton	5,0 g
Agar	15 g
Air suling hingga	1000 ml

Pembuatan:

Ditimbang medium NA sebanyak 2 gram, dilarutkan dalam 100 ml dan dipanaskan di atas penangas air hingga melarut. Disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.

2. Nutrient Broth

Komposisi: (8 g/ 1 L)

Ekstrak beef	3,0 g
Pepton	5,0 g
Air suling hingga	1000 ml

Pembuatan:

Ditimbang medium NB sebanyak 0,8 gram, dilarutkan dalam 100 ml dan dipanaskan di atas penangas air hingga melarut. Disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.

3. Semisolid Indol Motiliti (SIM)

Komposisi: (30 g/1 L)

Pepton dari casein	20,0 g
--------------------	--------

Peptic dari daging	6,1 g
Ferri ammonium sulfat	0,2 g
Natrium tiosulfat	0,2 g
Agar	3,5 g
Air suling hingga	1000 ml

Pembuatan:

Ditimbang medium SIM sebanyak 3 gram, dilarutkan dalam 100 ml dan dipanaskan di atas penangas air hingga melarut. Disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.

4. Gelatin

Komposisi: (128 g/ 1 L)

Ekstrak beef	3,0 g
Pepton	5,0 g
Gelatin	120,0 g
Air suling hingga	1000 ml

Pembuatan:

Ditimbang medium Gelatin sebanyak 12,8 gram, dilarutkan dalam 100 ml dan dipanaskan di atas penangas air hingga melarut. Disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.

5. Gula-gula (Glukosa, manitol, arabinosa)

Komposisi: (26 g/ 1 L)

Ekstrak beef	1,0 g
NaCl	5,0 g
Fenol merah/Metilen biru	0,0018 g

Gula-gula	10,0 g
Air suling hingga	1000 ml

Pembuatan:

Ditimbang medium gula-gula sebanyak 2,6 gram, dilarutkan dalam 100 ml dan dipanaskan di atas penangas air hingga melarut. Disterilkan pada suhu 116-118°C selama 15 menit.

6. Simon's Citrat Agar (SCA)

Komposisi: (35 g/1 L)

Natrium sitrat	2,0 g
NaCl	5,0 g
Dikalium Hidrogen Pospat	1,0 g
Ammonium Dihidrogen Pospat	1,0 g
Magnesium sulfat	0,2 g
Brom timol biru	0,08 g
Agar	15,0 g
Air suling hingga	1000 ml

Pembuatan:

Ditimbang medium SCA sebanyak 3,5 gram, dilarutkan dalam 100 ml dan dipanaskan di atas penangas air hingga melarut. Disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.

7. Urea Broth

Komposisi: (18,71 g/1 L)

Ekstrak ragi	0,1 g
Kalium Dihidrogen Pospat	9,1 g

Natrium Hidrogen Pospat	9,5 g
Urea	20,0 g
Fenol Merah	0,01 g
Air suling hingga	1000 ml

Pembuatan:

Ditimbang medium urea broth sebanyak 1,87 gram, dilarutkan ke dalam 100 ml air suling dan dipanaskan hingga larut. Disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.

8. Luria Bertani Agar (LB) pH 7,2

Komposisi:

Ekstrak ragi	5 g
Trypton	10 g
NaCl	10 g
Agar	15% (b/V)
Air suling hingga	1000 ml

Pembuatan:

Ditimbang semua bahan dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Dipanaskan hingga larut. Disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.

9. a. Luria Bertani Dapar Asetat (Larutan A. 0,25M, pH 6,8)

Komposisi:

Trypton	2 g
Ekstrak ragi	1 g
NaCl	2 g
Air suling hingga	1000 ml

Pembuatan:

Ditimbang semua bahan dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer.

Dipanaskan hingga larut. Disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.

b. Luria Bertani Dapar Asetat (Larutan B. 2M, pH 6,8)

Komposisi:

Natrium Asetat	16,4 g
Air suling hingga	1000 ml

Pembuatan:

Ditimbang semua bahan dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer.

Dipanaskan hingga larut. Disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.

Derajat keasaman akhir dalam pembuatan media LB (larutan B) diatur dengan menambahkan larutan asam asetat (CH_3COOH) 2M.

10. T3 pH 6,8

Komposisi:

Trypton	3 g
Ekstrak ragi	1,5 g
Protease pepton	2 g
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	8,9 g
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	6,9 g
MnCl_2	0,05 g
Air suling hingga	1000 ml

Pembuatan:

Ditimbang semua bahan dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer.
Dipanaskan hingga larut. Disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.
Derajat keasaman akhir dalam pembuatan media T3 diatur dengan menambahkan NaOH



Lampiran 5. Pembuatan Reagen

1. Cat A

a. Larutan pokok Kristal violet

Komposisi:

Kristal violet	20,0 g
Etanol 95%	100,0 ml

b. Larutan pokok Oksalat

Komposisi:

Amonium okslata	1,0 g
Air suling	100,0 ml

Larutan yang digunakan di laboratorium:

Larutan pokok Kristal violet	1 bagian
Air suling	10 bagian
Larutan pokok ammonium oksalat	4 bagian

Pembuatan:

Dicampur larutan (a) dan (b) kemudian simpan dalam botol bertutup gelas.

2. Cat B

Larutan Yodium

Komposisi:

Kristal Yodium	1,0 g
Kalium yodida	2,0 g
Air suling	5,0 ml

Pembuatan:

Dilarutkan semua bahan kemudian setelah larut ditambahkan air suling 240,0 ml dan cairan Natrium bikarbonat 5% sebanyak 60,0 ml.

3. Cat C

Larutan pemucat

Komposisi:

Etanol 250,0 ml

Aseton 250,0 ml

Pembuatan:

Dicampurkan kedua bahan dan dimasukkan ke dalam wadah botol kaca.

4. Cat D

Larutan pokok Safranin

Komposisi:

Safranin O 2,5 g

Etanol 95% 100,0 ml

Larutan yang digunakan dalam laboratorium:

Encerkan larutan pokok safranin

Larutan pokok safranin 1 bagian

Air suling 5 bagian

5. Pewarnaan spora

a. Larutan *Malachit Green*Komposisi:

Malachit green 50,0 g

Air suling 1000,0 ml

Pembuatan:

Dicampurkan kedua bahan ini dan dibiarkan semalaman. Disaring larutan ini dengan kertas saring.

b. Larutan Safranin

Komposisi:

Safranin	5,0 g
Air suling	1000,0 ml

6. Reagen Ehrlich

Komposisi:

Paradimetilaminobenzaldehida	2,0 g
Etanol 95%	190,0 ml
HCl pekat	40,0 ml

DAFTAR RIWAYAT HIDUP



Noer Fauziah Rahman adalah anak dari pasangan Rahman dan Nuliati. Merupakan anak kedua dari empat bersaudara yang semuanya adalah perempuan. Dilahirkan di Ujung Pandang (sekarang Makassar) pada tanggal 9 Oktober. Perjalanan pendidikan yang telah ditempuhnya adalah TK Fadillah Makassar kemudiann melanjutkan ke SDN Mamajang I Makassar. Setelah menyelesaikan pendidikan sekolah dasar selama enam tahun, lalu melanjutkan sekolah menengah pertama di SMPN 6 Makassar. Lepas tiga tahun mengenyam pendidikan di sana, kemudian melanjutkan studi di SMA Kartika Wirabuana-1 (sekarang Kartika XX-1) Makassar selama tiga tahun. Tahun 2010, melalui jalur UMB (Ujian Masuk Bersama) akhirnya berhasil masuk di UIN Alauddin Makassar, tepatnya pada Jurusan Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan.

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R